

**PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK MENIRAN  
(*PHYLLANTHUS NIRURI L.*) MENGGUNAKAN  
MICROWAVE-ASSISTED EXTRACTION TERHADAP  
VISKOSITAS, FOAM, OPTICAL MICROSCOPY  
NANO PROTEIN WHEY**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

Winda Fransisca Saragih  
175050100111089



**PROGRAM STUDI PETERNAKAN  
FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2021**



**PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK MENIRAN  
(*PHYLLANTHUS NIRURI L.*) MENGGUNAKAN  
MICROWAVE-ASSISTED EXTRACTION TERHADAP  
VISKOSITAS, FOAM, OPTICAL MICROSCOPY  
NANO PROTEIN WHEY**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**Winda Fransisca Saragih  
175050100111089**

Skrripsi ini merupakan salah satu syarat untuk  
memperoleh gelar Sarjana Peternakan pada Fakultas  
Peternakan Universitas Brawijaya

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN  
FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2021**

## HALAMAN PENGESAHAN

### **PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK MENIRAN (*PHYLLANTHUS NIRURI L.*) MENGGUNAKAN MICROWAVE-ASSISTED EXTRACTION TERHADAP VISKOSITAS, FOAM, OPTICAL MICROSCOPY NANO PROTEIN WHEY**

**Skripsi**

**Oleh:**

**Winda Fransisca Saragih  
NIM. 175050100111089**

**Telah Dinyatakan LULUS dalam Ujian Sarjana  
Pada Hari/Tanggal : Jumat/21 Mei 2021**

**Mengetahui:**

**Dekan Fakultas Peternakan  
Universitas Brawijaya**



**(Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Suyadi,**

**MS., IPU., ASEAN Eng.)**

**NIP. 196204031987011001**

**Tanggal 10 Juni 2021**

**Menyetujui:**

**Pembimbing**

**(Dr. Abdul Manab, S.Pt.,MP.)**

**NIP. 197008281997021001**

**Tanggal 10 Juni 2021**



## RIWAYAT HIDUP



Winda Fransisca Saragih dilahirkan di Mulioorejo, Sumatera Utara pada tanggal 30 April 1999 sebagai anak kedua dari dua bersaudara, putri dari Bapak Anno Freddy Saragih dan Ibu Yetty Siahaan. Penulis menamatkan pendidikan dasar di SD Swasta Andreas Sunggal pada tahun 2011, sekolah menengah pertama di SMP Santo Thomas 3 Medan pada tahun

2014 dan sekolah menengah atas di SMA Negeri 4 Medan pada tahun 2017. Penulis diterima di Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) pada tahun 2017.

Selama menjalani studi di Universitas Brawijaya, penulis pernah mengikuti kepanitiaan antara lain menjadi Koordinator Divisi Dekorasi, Dokumentasi dan Multimedia (DDM) Pemilihan Mahasiswa Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya (PEMILWA FAPET UB) pada tahun 2018, sekretaris acara *One Day With Native* IAAS LC-UB pada tahun 2019. Penulis juga aktif dalam mengikuti organisasi kemahasiswaan antara lain, anggota *education* EGP Fapet UB pada tahun 2018, anggota *exchange program* IAAS LC-UB pada tahun 2019 dan sebagai menteri dari Kementerian Dalam Negeri Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) Fapet UB pada tahun 2020.

Penulis merupakan asisten praktikum laboratorium Teknologi Hasil Ternak (THT) pada tahun 2019 sampai 2021. Penulis melaksanakan Praktek Kerja Lapang (PKL) secara

*online* pada tanggal 22 Juni 2020 hingga 23 Juli 2020 dengan judul “Manajemen Penetasan Telur Broiler di PT. Cibadak Indah Sari Farm Jakarta Barat”. Tahun 2020, penulis menempuh pendidikan pascasarjana melalui program Fast-Track yaitu program Magister Ilmu Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya.



## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas karunia dan anugerahnya yang melimpah sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Skripsi dengan lancar sesuai dengan ketentuan yang berlaku dengan judul **“Pengaruh Penambahan Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri L.*) Menggunakan Microwave-Assisted Extraction Terhadap Viskositas, Foam, Optical Microscopy Nano Protein Whey”**.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Peternakan pada Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terimakasih kepada semua pihak yang telah terlibat dan membantu dalam penyelesaian pengerjaan penelitian ini, diantaranya kepada yang terhormat dan terkasih :

1. Bapak Anno Freddy Saragih dan Ibu Yetty Siahaan selaku orang tua atas doa dan dukungannya secara moril maupun materil.
2. Andi Methias Saragih, S.P. selaku abang saya yang telah memberi semangat, doa dan dukungan secara moril dan materil.
3. Dr. Abdul Manab, S.Pt., MP. selaku Pembimbing Utama atas saran, motivasi dan bimbingannya.
4. Dr. Premy Puspitawati Rahayu, S.Pt., MP. selaku Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktu untuk memberi arahan dan saran selama penyelesaian skripsi.
5. Dr. Ir. Manik Eirry Sawitri, MS. selaku Dosen Penguji atas nasehat, perbaikan dan sarannya.



6. Dr. Ir. Muharliien, MP. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan pengarahan, saran dan masukan.
7. Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Suyadi, MS., IPU., ASEAN Eng. selaku Dekan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya yang memberi fasilitas dan membina kelancaran studi.
8. Dr. Khotibul Umam Al Awwaly, S.Pt., M.Si. selaku Ketua Jurusan Peternakan yang telah memberi masukan dan semangat untuk kelancaran studi.
9. Dr. Herly Evanuarini, S.Pt., MP. selaku Ketua Program Studi Peternakan yang telah banyak membina kelancaran proses studi.
10. Dr. Ir. Imam Thohari, MP., IPM., ASEAN Eng. selaku Koordinator Minat Teknologi Hasil Ternak yang telah banyak membina kelancaran proses studi.
11. Nabila dan Mas Rifky, tim satu penelitian atas kerjasama, semangat, tawanya.
12. Teman-teman PMK Ekklesia dan Aish Club atas bantuan dan dukungannya.

Terlepas dari semua itu, penulis menyadari bahwasannya penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan membutuhkan kritik serta saran yang membangun dari pembaca maupun dari pihak yang ahli dalam bidang ini.

Malang, 7 Juni 2021

Penulis,

Winda Fransisca Saragih

# **EFFECT OF ADDITION MENIRAN EXTRACT (*PHYLLANTHUS NIRURI L.*) USING MICROWAVE- ASSISTED EXTRACTION ON VISCOSITY, FOAM, OPTICAL MICROSCOPY NANO WHEY PROTEIN**

Winda Fransisca Saragih<sup>1)</sup> and Abdul Manab<sup>2)</sup>

- 1) Student of Animal Science, Brawijaya University,  
Malang
- 2) Lecturer of Animal Science, Brawijaya University,  
Malang

E-mail : [windafs30@gmail.com](mailto:windafs30@gmail.com)

## **ABSTRACT**

The purpose of this research were to determined effect of addition and best addition meniran extract on nano whey protein in terms of viscosity, foam and optical microscopy. Data collection method was laboratory experiment with 4 treatments meniran extract content consist of P0 (without meniran extract), P1 (30 ug/ml), P2 (60 ug/ml) and P3 (90 ug/ml) which repeated 3 replications, respectively. Experiment was designed by Completely Randomized Design (CRD). The data was analyzed by Analysis of Variance (ANOVA), if there were significantly differences would be continued by Duncan Multiple Range Test (DMRT). The results showed that addition meniran extract on nano whey protein has significant different ( $P < 0,05$ ) of viscosity. However, has not significant different ( $P > 0,05$ ) of foam overrun and foam stability. Based on this research, conclude that addition meniran extract 90



ug/ml (P3) on nano whey protein can maintain physic properties of whey protein with best result was optimal viscosity, foam overrun, foam stability and optical microscopy was almost uniform, spread equally and has thick lamella of bubbles.

**Keywords** : nano whey protein, meniran extract, foam overrun, foam stability, optical microscopy

# **PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK MENIRAN (*PHYLLANTHUS NIRURI L.*) MENGGUNAKAN MICROWAVE-ASSISTED EXTRACTION TERHADAP VISKOSITAS, FOAM, OPTICAL MICROSCOPY NANO PROTEIN WHEY**

Winda Fransisca Saragih<sup>1)</sup> dan Abdul Manab<sup>2)</sup>

- 1) Mahasiswa S1 Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang
- 2) Dosen Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang

E-mail : [windafs30@gmail.com](mailto:windafs30@gmail.com)

## **RINGKASAN**

Susu merupakan bahan pangan sumber protein hewani yang disintesis oleh kelenjar mammae (ambing) dan dihasilkan pada saat periode laktasi. Susu pada kelenjar mammae berasal dari pakan ternak bernutrisi dan disuplai oleh darah. Salah satu komponen gizi yang terdapat pada susu yaitu protein. Protein susu merupakan kelompok molekul yang sangat heterogen, terdiri dari lima kategori yaitu kasein, protein whey, protein globul lemak susu, enzim dan protein minor lainnya. Protein whey memiliki sifat kelarutan yang tinggi, mampu menciptakan viskositas, pembentuk dan penstabil buih.

Tanaman meniran diekstraksi menggunakan metode *Microwave-Assisted Extraction* dengan pelarut aquades. Ekstraksi dilakukan menggunakan panas yang dihasilkan oleh gelombang mikro pada *microwave* sehingga jaringan dan

dinding sel pada meniran akan lisis yang berakibat terekstraknya senyawa bioaktif meniran. Penambahan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri* L) yang mengandung flavonoid pada protein whey akan berinteraksi dan saling berikatan sehingga mengubah struktur protein dan meningkatkan manfaat kesehatan. Penelitian dilaksanakan Bulan Januari 2021 sampai dengan Bulan Februari 2021 di Laboratorium Teknologi Hasil Ternak (THT) Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang dan Laboratorium Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan (FKIK) UIN Kampus 3, Kota Batu. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak meniran terhadap viskositas, *foam overrun*, *foam stability* dan *optical microscopy* pada nano protein whey.

Materi yang digunakan pada penelitian adalah protein whey dan ekstrak meniran. Metode yang digunakan adalah metode percobaan Rangkaian Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan penambahan ekstrak meniran yaitu P0 (tanpa penambahan ekstrak meniran), P1 (penambahan ekstrak meniran 30 ug/ml), P2 (penambahan ekstrak meniran 60 ug/ml) dan P3 (penambahan ekstrak meniran 90 ug/ml) dengan masing-masing 3 ulangan. Variabel yang diamati adalah viskositas, *foam overrun*, *foam stability* dan mikroskopis buih. Data yang diperoleh pada uji viskositas, *foam overrun* dan *foam stability* dianalisa menggunakan analisis ragam DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) jika menunjukkan adanya perbedaan. Sedangkan data uji mikroskopis buih dianalisa secara deskriptif.



Hasil penelitian penambahan ekstrak meniran pada nano protein whey terhadap viskositas menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) namun tidak ada perbedaan ( $P > 0,05$ ) terhadap *foam overrun* dan *foam stability*. Penelitian penambahan ekstrak meniran 90 ug/ml (P3) pada nano protein whey ini mampu mempertahankan sifat fisik protein whey dengan hasil analisa viskositas yang optimal, *foam overrun*, *foam stability* dan analisa deskriptif *optical microscopy* dengan bentuk buih yang hampir seragam, persebaran buih merata serta lamella yang tebal.

## DAFTAR ISI

Isi	Halaman
<b>RIWAYAT</b>	
<b>HIDUP</b>	
.....	Err
or! Bookmark not defined.	
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iiii
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>RINGKASAN</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	x
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiv
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	xv
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	

Error! Bookmark not defined.

1.1	Latar	Belakang
.....		Er

ror! Bookmark not defined.

1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Kegunaan.....	4
1.4.1 Bagi Ilmu Pengetahuan.....	4
1.4.2 Bagi Penelitian Lebih Lanjut.....	4
1.5 Kerangka Pikir.....	4
1.6 Hipotesis.....	8

<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>9</b>
---------------------------------------	----------

2.1 Protein Whey.....	9
2.1.1 Whey Protein Isolate (WPI).....	11
2.2 Meniran.....	14



2.3 Ekstraksi dan Evaporasi.....	17
2.4 Interaksi <i>Whey Protein Isolate</i> (WPI) Meniran.....	19
2.5 Viskositas.....	22
2.6 <i>Foam Overrun</i> .....	23
2.7 Foam Stability .....	24
2.8 Optical Microscopy.....	25
<b>BAB III. MATERI DAN METODE PENELITIAN .....</b>	<b>27</b>
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	27
3.2 Materi Penelitian.....	27
3.3 Metode Penelitian .....	28
3.3.1 Penelitian Terdahulu .....	30
3.3.2 Penelitian Utama .....	31
3.4 Variabel yang Diukur .....	31
3.5 Prosedur Penelitian.....	32
3.6 Analisa Statistik.....	35
3.7 Batasan Istilah.....	35
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>37</b>
4.1 Pengaruh Penambahan Ekstrak Meniran pada Nano Protein Terhadap Viskositas .....	37
4.2 Pengaruh Penambahan Ekstrak Meniran pada Nano Protein Terhadap <i>Foam Overrun</i> .....	40
4.3 Pengaruh Penambahan Ekstrak Meniran pada Nano Protein Terhadap <i>Foam Stability</i> .....	44
4.4 Pengaruh Penambahan Ekstrak Meniran pada Nano Protein Terhadap <i>Optical Microscopy</i> .....	48
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>52</b>
5.1 Kesimpulan.....	52
5.2 Saran .....	52
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>53</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>72</b>





## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Komponen <i>Whey Protein Isolate</i> (WPI) .....	13
Tabel 2. Model Tabulasi Data Penelitian .....	29
Tabel 3. Komposisi <i>Whey Protein</i> dan Larutan Ekstrak Meniran.....	30
Tabel 4. Rataan Viskositas Penambahan Ekstrak Meniran pada Protein <i>Whey</i> .....	37
Tabel 5. Rataan <i>Foam Overrun</i> Penambahan Ekstrak Meniran pada Protein <i>Whey</i> .....	40
Tabel 6. Rataan <i>Foam Overrun</i> Penambahan Ekstrak Meniran pada Protein <i>Whey</i> .....	45
Tabel 7. Data dan Analisis Statistika Viskositas .....	74
Tabel 8. Analisis Ragam Viskositas.....	75
Tabel 9. DMRT Viskositas.....	75
Tabel 10. Data dan Analisis Statistika <i>Foam Overrun</i> .....	76
Tabel 11. Analisis Ragam <i>Foam Overrun</i> .....	77
Tabel 12. Data dan Analisis Statistika <i>Foam Stability</i> .....	78
Tabel 13. Analisis Ragam <i>Foam Stability</i> .....	79

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Kerangka Pikir.....	7
Gambar 2. WPI 90 Plain .....	12
Gambar 3. Tanaman Herbal Meniran ( <i>Phyllanthus niruri L.</i> ).....	15
Gambar 4. Serbuk Meniran yang Telah Dikeringkan .....	16
Gambar 5. Mekanisme Interaksi Protein dan Polifenol pada Interface .....	21
Gambar 6. Prosedur Penelitian.....	33
Gambar 7. <i>Optical Microscopy</i> Buih .....	49



## DAFTAR LAMPIRAN

### Lampiran

### Halaman

Lampiran 1. Prosedur Kerja Pengujian Viskositas.....	72
Lampiran 2. Prosedur Kerja Pengujian <i>Foam Overrun</i> .....	72
Lampiran 3. Prosedur Kerja Pengujian <i>Foam Stability</i> .....	72
Lampiran 4. Prosedur Kerja Pengujian <i>Optical Microscopy</i>	73
Lampiran 5. Data dan Analisis Statistika Viskositas .....	74
Lampiran 6. Data dan Analisis Statistika <i>Foam Overrun</i> ....	76
Lampiran 7. Data dan Analisis Statistika <i>Foam Stability</i> ....	78
Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian.....	80

## DAFTAR SINGKATAN



$\alpha$	: Alpa
$\beta$	: Beta
cP	: Sentipoise
%	: Persen
$^{\circ}\text{C}$	: Derajat Celcius
nm	: Nanometer
WPI	: Whey Protein Isolate
SK	: Sumber Keragaman
db	: Derajat Bebas
JK	: Jumlah Kuadrat
KT	: Kuadrat Tengah
DMRT	: Duncan Multiple Range Test

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Susu merupakan bahan pangan sumber protein hewani yang disintesis oleh kelenjar mammae (ambing) dan dihasilkan pada saat periode laktasi. Susu pada kelenjar mammae berasal dari pakan ternak bernutrisi dan disuplai oleh darah (Wit, 2001). Salah satu komponen gizi yang terdapat pada susu yaitu protein. Protein merupakan makromolekul dengan berbagai tingkat pengorganisasian struktur. Struktur primer protein berkaitan dengan ikatan peptida antara komponen asam amino dan urutan asam amino dalam molekulnya (Manab, Sawitri dan Awwaly, 2017). Protein susu merupakan kelompok molekul yang sangat heterogen, terdiri dari lima kategori yaitu kasein, protein whey, protein globul lemak susu, enzim dan protein minor lainnya (Ng-Kwai-Hang, 2003).

Komponen protein utama pada susu terdiri atas protein kasein dan protein whey. Kadar kasein pada protein susu mencapai 80% dari jumlah protein yang terdapat dalam susu sapi, sedangkan protein whey sebanyak 20%. Kandungan protein whey pada susu yaitu  $\alpha$ -laktalbumin ( $\alpha$ -LA, 20%),  $\beta$ -laktoglobulin ( $\beta$ -Lg, 50%), serum albumin (BSA, 10%), immuno-globulins (10%) dan peptones protease ( $<10\%$ ) (Harna, Kusharto, dan Roosita, 2017). Secara alamiah, whey protein memiliki sifat kelarutan yang tinggi, mampu menciptakan viskositas melalui pengikatan air, pembentuk gel, sebagai *emulsifier*, pengikat lemak, membantu pengocokan, pembusaan, serta meningkatkan warna, rasa, dan tekstur (Hutama dan Andoyo, 2019).



Protein whey merupakan hasil samping dari pengolahan produk olahan susu yaitu keju atau produksi kasein berwarna kuning kehijauan yang dihasilkan dari riboflavin vitamin C. Protein whey terutama  $\beta$ -laktoglobulin ( $\beta$ -lg) memiliki sifat pembuihan yang baik (Baeza, Sanchez, Patino and Pilosof, 2005). Pembentukan buih dipengaruhi oleh adsorpsi bahan pembuih pada *interface* udara-air dan kemampuan bahan tersebut menurunkan tegangan permukaan (Rodríguez, von Staszewski and Pilosof, 2015). Tegangan permukaan bisa berkurang dengan adanya polifenol. Nanopartikel protein-polifenol menghasilkan tekanan *interfacial* lebih rendah daripada protein saja. Polifenol berinteraksi dengan gugus hidrofob asam amino sehingga domain hidrofob tidak sepenuhnya dapat menembus *interface*. Interaksi antara protein dan polifenol dapat mempengaruhi kemampuan protein berinteraksi pada *interface* udara-air sehingga terbentuk buih (von Staszewski, Ruiz-Henestrosa and Pilosof, 2014).

Stabilisasi buih memerlukan pembentukan film yang kohesif dan viskoelastis melalui interaksi intermolekular. Stabilitas buih tergantung pada stabilitas film cair tipis (*lamellae*). Pada awal terbentuknya buih, gelembung udara berbentuk bulat dan *lamellae* tebal, mengandung cairan dalam jumlah banyak. Seiring berjalannya waktu, maka cairan di buih berkurang, *lamellae* menjadi tipis, dan gelembung udara saling mendekat dan membentuk polihedral. Pemisahan cairan dari *lamellae* menjadikan buih mendekat satu sama lain, jika film bersifat permeabel maka akan terbentuk gelembung yang besar. Akhirnya, film menjadi rapuh sehingga film hancur. Pembentukan nanopartikel  $\beta$ -laktoglobulin-polifenol sangat efektif dalam mencegah rusaknya buih dan mempertahankan

stabilitas buih (Rodríguez, *et al.*, 2015). Salah satu sumber polifenol adalah meniran (*Phyllanthus niruri* L.).

Tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri* L.) yang digunakan pada penelitian ini diekstraksi terlebih dahulu menggunakan metode *Microwave-Assisted Extraction* (MAE). Shakinaz, Refaat and Sheltawy (2010) melaporkan bahwa *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) adalah teknik untuk mengekstraksi bahan-bahan terlarut di dalam sampel menggunakan pelarut air dengan bantuan energi gelombang mikro. Keunggulan MAE sebagai metode ekstraksi adalah meminimalkan penggunaan pelarut organik, efisien terhadap waktu, dan sebagai metode ekstraksi yang ramah lingkungan.

Meniran merupakan salah satu tanaman herbal dari Indonesia yang mampu memberikan manfaat bagi kesehatan manusia. Kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid dapat memberikan efek antioksidan dan berkhasiat sebagai immunomodulator. Hal ini dibuktikan dengan dipatenkannya meniran sebagai salah satu komposisi produk obat yaitu Stimuno (Sulaksana dan Jayusman, 2004). Pemanfaatan ekstrak meniran tidak hanya memberikan manfaat kesehatan, namun pengaplikasiannya pada produk pangan yaitu protein whey dapat memperbaiki sifat fungsional, mempermudah proses absorpsi oleh tubuh manusia dan dapat dijadikan sebagai *functional food*. Penambahan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri* L.) pada nano protein whey akan menghasilkan suatu ikatan kovalen dan ikatan non kovalen berupa interaksi hidrofobik, van der Waals dan ikatan hidrogen. Akibatnya akan terjadi perubahan terhadap viskositas, *foam overrun*, *foam stability* dan *optical microscopy* pada nanopartikel protein whey-polifenol meniran.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana pengaruh penambahan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri* L.) terhadap viskositas, *foam overrun*, *foam stability* dan *optical microscopy* pada nano protein whey.

## **1.3 Tujuan**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri* L.) terhadap viskositas, *foam overrun*, *foam stability* dan *optical microscopy* pada nano protein whey.

## **1.4 Kegunaan**

### **1.4.1 Bagi Ilmu Pengetahuan**

Meningkatkan informasi dan pengetahuan tentang nano protein whey dengan penambahan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri* L.) yang dapat memperbaiki sifat fungsional protein whey serta interaksi yang terjadi pada protein whey-polifenol.

### **1.4.2 Bagi Penelitian Lebih Lanjut**

Memberikan informasi dan menciptakan inovasi baru yang terdapat pada penelitian pengaruh penambahan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri* L.) terhadap viskositas, *foam overrun*, *foam stability* dan *optical microscopy* pada nano protein whey.

## **1.5 Kerangka Pikir**

Protein pada susu mempunyai komponen 80% kasein dan 20% whey. Kasein umumnya digunakan untuk pembuatan keju, sedangkan whey merupakan hasil samping dari pembuatan keju. Telah diketahui protein whey memiliki



kandungan protein yang tinggi (Dzulfia, Damiyanti dan Herda, 2016). Whey merupakan cairan kuning kehijauan yang berasal dari sisa pengolahan susu atau keju. Whey masih memiliki kandungan nutrisi yang baik untuk dikonsumsi tubuh, mampu menciptakan viskositas dan pembusaan (Hutama dan Andoyo, 2019).

Komponen protein whey meliputi laktoferin,  $\alpha$ -laktalbumin ( $\alpha$ -la),  $\beta$ -laktoglobulin ( $\beta$ -lg), glikomakropeptida, dan imunoglobulin (Susanti dan Hidayat, 2016). Protein whey terutama  $\beta$ -laktoglobulin ( $\beta$ -lg) memiliki sifat pembuihan yang baik (Baeza, *et al.*, 2005). Pembentukan nanopartikel  $\beta$ -laktoglobulin-polifenol sangat efektif dalam mencegah rusaknya buih dan mempertahankan stabilitas buih (Rodríguez, *et al.*, 2015).

Salah satu bentuk kemajuan teknologi pada protein susu adalah pembuatan nanowhey. Nanowhey merupakan protein-whey yang memiliki ukuran 4-6 nanometer (nm) karena adanya penerapan teknologi nano baik secara teknik maupun peralatan yang dipergunakan dalam proses pengolahan dan produksi (Riwayati, 2007).

Herbal meniran (*Phyllanthus niruri* L.) mengandung filantin, hipofilantin, damar, kalium, tanin, saponin, flavanoid dan triterpenoid (Heyne, 1987). Meniran merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional. Herbal meniran mampu meningkatkan daya tahan tubuh (Subarnas, 2005) dan mempunyai efek farmakologi sebagai antiinflamasi, antipiretik, diuretik, penambah nafsu makan, sakit kuning, malaria, batuk, dan disentri (Badan POM, 2006).

Tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri* L.) yang digunakan pada penelitian ini diekstraksi terlebih dahulu menggunakan metode *Microwave-Assisted Extraction* (MAE).

Shakinaz, *et al.* (2010) melaporkan bahwa *Microwave-Assisted extraction* (MAE) adalah teknik untuk mengekstraksi bahan-bahan terlarut di dalam sampel menggunakan pelarut air dengan bantuan energi gelombang mikro.

Nano protein whey dengan penambahan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri L.*) memiliki banyak manfaat bagi kesehatan manusia. Penambahan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri L.*) merupakan alternatif bahan pangan yang dapat ditambahkan pada protein whey karena dapat dijadikan sebagai antioksidan dan produk immunomodulator. Immunomodulator merupakan zat senyawa bioaktif yang ada pada tanaman meniran yang dapat memperbaiki aktivitas sistem imun.

Polifenol dari meniran berinteraksi dengan gugus hidrofob asam amino sehingga domain hidrofob tidak sepenuhnya menembus *interface*. Interaksi antara protein dan polifenol dapat mempengaruhi kemampuan protein berinteraksi pada *interface* udara-air sehingga terbentuk buih (von Staszewski, Ruiz-Henestrosa and Pilosof, 2014). Pembentukan nanopartikel  $\beta$ -laktoglobulin-polifenol sangat efektif dalam mencegah rusaknya buih dan mempertahankan stabilitas buih (Rodríguez, *et al.*, 2015).

Penelitian penambahan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri L.*) akan mempengaruhi viskositas, *foam overrun*, *foam stability* dan *optical microscopy* pada nano protein whey. Kerangka pikir disajikan dalam Gambar 1 berikut ini.

Protein utama susu yaitu kasein dan whey

Whey merupakan cairan kuning kehijauan yang berasal dari sisa pengolahan susu atau keju. Whey masih memiliki kandungan nutrisi yang baik untuk dikonsumsi tubuh (Hutama dan Andoyo, 2019).

Pemanfaatan Sifat Fungsional

Komponen protein whey yaitu laktoferin,  $\alpha$ -laktalbumin ( $\alpha$ -la),  $\beta$ -laktoglobulin ( $\beta$ -lg), glikomakropeptida, dan imunoglobulin (Susanti dan Hidayat, 2016). Komponen  $\beta$ -laktoglobulin merupakan komponen utama dan terbanyak yang memiliki sifat pembuihan yang baik (Baeza, *et al.*, 2005).

Serbuk meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

Ekstraksi metode MAE selama 10 menit (Rahayu, *et al.*, 2019)

P0 : Tanpa penambahan ekstrak meniran  
P1 : Penambahan ekstrak meniran 30 ug/ml  
P2 : Penambahan ekstrak meniran 60 ug/ml  
P3 : Penambahan ekstrak meniran 90 ug/ml

Analisa

Viskositas

Foam  
Overrun

Foam  
Stability

Optical  
Microscopy

Gambar 1. Kerangka Pikir



### 1.6 Hipotesis

Penambahan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dengan metode *Microwave-Assisted Extraction* diduga mempengaruhi viskositas, *foam overrun*, *foam stability* dan *optical microscopy* pada nano protein whey.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Protein Whey

Protein susu dan partikel protein whey, digunakan sebagai komposisi makanan penting karena fungsi dan kandungan nutrisi nya (Christiansen, Vegarud, Langsrud and Ellekjaer, 2004); (Sarkar, Goh, Singh and Singh, 2009). Protein merupakan makromolekul dengan berbagai tingkat pengorganisasian struktur. Struktur primer protein berkaitan dengan ikatan peptida antara komponen asam amino dan urutan asam amino dalam molekulnya (Manab, dkk., 2017). Protein whey merupakan sumber optimal untuk fortifikasi, terutama karena kaya akan beberapa asam amino esensial, termasuk isoleusin, leusin, treonin, triptofan dan valin (Hambraeus, 2003). Peptida bioaktif pada protein whey memiliki beberapa kandungan nutrisi yang disintesis di dalam sel. Peptida bioaktif dianggap memiliki efek fisiologis yang signifikan pada sistem kekebalan tubuh, kardiovaskular, saraf dan pencernaan (Madureira, Tavares, Gomes, Pintado and Malcata, 2010).

Berdasarkan sifat kelarutan pada pH 4,6 dan suhu 20°C, protein susu dibagi menjadi dua yaitu kasein yang terpresipitasi pada kondisi tersebut dengan jumlah sekitar 80% dari total protein susu dan protein whey yang tetap larut dalam kondisi tersebut dengan jumlah sekitar 20% dari total protein susu (Fox, Guinee, Cogan and Guinee, 2000). Larutan yang tersisa setelah kasein dipresipitasi dari susu disebut whey. Sekitar 20% dari total protein susu masih berada dalam whey. Secara keseluruhan/kolektif, protein susu yang berada dalam whey disebut protein whey atau protein serum atau *non casein*.

*nitrogen* (Walsh, 2014). Protein whey termasuk protein globuler dan labil terhadap kondisi panas, termasuk  $\beta$ -laktoglobulin,  $\alpha$ -laktalbumin, *bovine serum albumin*, proteosa-pepton serta imunoglobulin (Damodaran and Paraf, 1997).

Whey merupakan cairan kuning kehijauan yang berasal dari sisa pengolahan susu atau keju. Whey masih memiliki kandungan nutrisi yang baik untuk dikonsumsi tubuh. Whey biasanya diproduksi dalam bentuk bubuk (*whey powder*). Jika terdapat whey berbentuk cair (*liquid*) maka harus dikeringkan terlebih dahulu menjadi bubuk untuk digunakan sebagai komponen produk makanan (Arriaga, 2011). Ada dua jenis whey: *sweet whey*, berasal dari pembuatan keju dan produksi kasein oleh koagulasi rennet susu dan *acid whey*, yang dihasilkan dari proses destabilisasi koloid kasein susu dengan pengasaman dibawah pH 5 (Tamime, 2009). *Sweet whey* dan *acid whey* umumnya dibedakan berdasarkan nilai pH, yaitu pH  $> 6,4$  dan pH 4,6-6,4 (Carvalho and Maubois, 2010). Secara alamiah, whey protein memiliki sifat kelarutan yang tinggi, mampu menciptakan viskositas melalui pengikatan air, pembentuk gel, sebagai emulsifier, pengikat lemak, membantu pengocokan, pembusaan, serta meningkatkan warna, rasa dan tekstur (Hutama dan Andoyo, 2019).

Pengetahuan dan perkembangan teknologi di Indonesia mampu meningkatkan daya saing terhadap suatu industri. Salah satu teknologi yang mampu meningkatkan kualitas industri makanan, kesehatan, kosmetik adalah nanoteknologi. Nanoteknologi menurut Institute of Science and Technology (IFST, 2006) didefinisikan sebagai suatu design produksi dan penerapan dari struktur, peralatan dan sistem melalui pengendalian bentuk dan ukuran material pada skala nanometer ( $10^{-9}$  m) (Morris, 2007). Teknologi nano meliputi



karakterisasi, fabrikasi, dan/atau manipulasi struktur, perangkat atau bahan yang memiliki setidaknya satu dimensi (atau mengandung komponen dengan setidaknya satu dimensi) yang kira-kira panjangnya 1–100 nm. (Duncan, 2011).

Salah satu bentuk kemajuan teknologi pada protein susu adalah pembuatan nanowhey. Nanowhey merupakan protein-whey yang memiliki ukuran 4-6 nanometer (nm) karena adanya penerapan teknologi nano baik secara teknik maupun peralatan yang dipergunakan dalam proses pengolahan, produksi maupun pengemasan (Riwayati, 2007).

### **2.1.1 Whey Protein Isolate (WPI)**

Ada empat produk dari whey protein berdasarkan teknik pengolahan yaitu *Whey Protein Powder* (WPP), *Whey Protein Concentrate* (WPC), *Whey Protein Isolate* (WPI) dan *Hydrolyzed Whey Protein* (HWP) (Kassem, 2015). Pada penelitian ini menggunakan *Whey Protein Isolate* (WPI) karena mudah diperoleh dan memiliki kandungan protein paling tinggi yaitu 90%.

*Whey Protein Isolate* (WPI) mengandung 90% protein dan 4-6% air. WPI biasanya dijadikan suplemen bagi olahragawan dan minuman sehat *protein-fortified*. Kandungan protein WPI tersusun atas 75%  $\beta$ -laktoglobulin dan 15%  $\alpha$ -laktalbumin yang banyak dimanfaatkan sebagai zat pengikat air, pembentuk gel, pengemulsi dan *foaming agent* (Fioramonti, Perez, Aringoli, Rubiolo and Santiago, 2014; Manab, dkk., 2017). WPI 90 dalam kemasan dan diluar kemasan dapat dilihat pada Gambar 2 dibawah ini.



**Gambar 2. WPI 90 Plain**

*Whey Protein Isolate* (WPI) memiliki kadar protein yang paling tinggi dibandingkan dengan produk whey protein lainnya yaitu sebesar 90%, oleh karena itu WPI memiliki harga yang cukup mahal. Protein whey melalui tahap isolasi yaitu dengan proses penyaringan yang canggih untuk menghilangkan karbohidrat dan lemak. Dengan demikian WPI memiliki persentase protein tertinggi dibandingkan dengan produk protein whey lainnya. Melalui proses tersebut, WPI menjadi sangat mudah diserap dan bekerja sangat cepat (Gangurde, Mayur, Pooja, and Nayana, 2011). Komponen nutrisi pada WPI dapat dilihat pada Tabel 1 berikut ini.

**Tabel 1.** Komponen *Whey Protein Isolate* (WPI) (Tsuge, Tanaka and Hisamatsu, 2000)

Nutrisi	Jumlah (%)
Air	3.23
Whey lipid	0.40
Whey protein	91.90
$\alpha$ -laktalbumin	27.64
$\beta$ -laktoglobulin	59.41
Bovine serum albumin	2.88
Lainnya	0.09
Non-protein nitrogen	1.85
Laktosa	2.30
Abu	1.84

Onwulata, Isobe, Tomasula and Cooke (2006) menyatakan tekstur WPI perlu diperhatikan, karena tekstur WPI yang ditambahkan dengan bahan-bahan pangan lainnya mengubah lipatan protein globular untuk meningkatkan interaksi dengan bahan pangan tersebut serta membuat fungsi baru. Garba and Kaur (2014) menyatakan *Whey Protein Isolate* (WPI) merupakan protein yang mempunyai tekstur paling halus dan tidak mengandung serat makanan, tetapi teksturnya tidak seperti tepung (*flour*).

WPI merupakan hasil samping daripada pengolahan keju atau produksi kasein yang masih memiliki komponen gizi yang baik bagi tubuh manusia, khususnya protein. Melalui proses pengolahan dengan memanfaatkan teknologi nano, maka WPI memiliki



beberapa kelebihan yaitu mudah diabsorpsi oleh tubuh terutama pada pencernaan (usus halus), memiliki total protein yang paling tinggi dibandingkan dengan produk whey protein lainnya dan struktur asam amino yang kompleks. Sehingga ketika diinteraksikan dengan penambahan ekstrak meniran akan mampu meningkatkan sifat fungsional nya. Kassem (2015) melaporkan manfaat dalam mengkonsumsi *Whey Protein Isolate* (WPI) adalah bebas laktosa dan lemak sehingga dapat dikonsumsi oleh *lactose-intolerant*, memiliki kandungan protein yang lebih banyak, memiliki gugus asam amino yang sangat baik, ideal untuk membentuk otot. WPI tersusun atas gugus asam amino yang jika ditambahkan dengan ekstrak meniran akan mempengaruhi viskositas, *foam overrun*, *foam stability* dan *optical microscopy* nano protein whey.

## 2.2 Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

Tumbuhan meniran berasal dari famili *Phyllanthaceae*, terbagi atas 2 spesies yaitu *Phyllanthus niruri* L. dan *Phyllanthus urinaria* L. Kedua spesies tanaman ini memiliki bentuk yang hampir mirip kecuali pada warna dan bentuk batang. *Phyllanthus niruri* L. memiliki batang monopodial dan berwarna hijau sedangkan *Phyllanthus urinaria* L. batangnya simpodial dan berwarna merah. Meniran merupakan tumbuhan semusim, tumbuh tegak, dan bercabang. Batang berbentuk bulat dengan tinggi antara 30-50 cm, memiliki daun majemuk, bunga tunggal terdapat pada ketiak daun menghadap ke arah bawah, buah berbentuk kotak, bulat pipih, berwarna hijau keunguan, bijinya kecil dan berakar tunggang (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1978).

Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) tumbuh liar di tempat yang lembab dan berbatu, seperti di sepanjang saluran air, semak-semak, dan tanah di antara rerumpunan. Meniran bisa tumbuh di daerah dengan ketinggian 1.000 mdpl. Tumbuhan meniran umumnya dikenal sebagai tumbuhan herbal dengan rasa yang agak pahit, manis, sifatnya sejuk, astringen (Dalimarta, 2002); (Kardinan dan Rahman, 2004). Tanaman herbal meniran digambarkan pada Gambar 3 dibawah ini.



**Gambar 3.** Tanaman Herbal Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

Sumber : [Google.com/aladokter.com](http://Google.com/aladokter.com)

Menurut hasil penelitian Rivai, Septika dan Boestari (2013) ekstrak herbal meniran mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, tannin, dan fenolik. Herbal meniran mampu meningkatkan daya tahan tubuh dan mempunyai efek farmakologi sebagai antiinflamasi, antipiretik, diuretik, penambah nafsu makan, sakit kuning, malaria, batuk, dan disentri (Badan POM, 2006). Meniran ini juga berkhasiat sebagai imunomodulator, hal ini terbukti telah dipatenkannya meniran sebagai obat Stimuno (Sulaksana dan Jayusman, 2004).

Rizal, Ledia dan Rivai (2010) melaporkan bahwa setelah penelitian dilakukan, diketahui cara pengeringan yang menggunakan metode kering angin memperlihatkan kadar senyawa fenolat yang tinggi serta aktivitas antioksidan yang paling kuat. Ini menandakan bahwa herbal meniran

(*Phyllanthus niruri* L.) memiliki potensi yang baik yang bisa dimanfaatkan sebagai salah satu sumber antioksidan alami untuk mencegah terjadinya radikal bebas. Cara pengeringan sampel memberi pengaruh terhadap perolehan kadar ekstraktif, kadar senyawa fenolat, dan daya antioksidan sampel. Meniran yang telah dikeringkan hingga berbentuk serbuk digambarkan pada Gambar 4 dibawah ini.



**Gambar 4.** Serbuk Meniran yang Telah Dikeringkan

Pada metode ekstraksi dilakukan dengan tiga tahapan yaitu maserasi, penyaringan dan penguapan. Pada tahap maserasi bahan-bahan kering pada ekstrak direndam dalam pot besar kemudian ditambah pelarut selama tiga hari. Kemudian dilanjutkan dengan tahap penyaringan dengan kertas saring. Pada tahap terakhir hasil penyaringan diuapkan dengan menggunakan alat *rotary vacuum evaporator*. Ekstrak yang dihasilkan setelah penguapan yaitu 70 g ekstrak kental (Sudarno, Setiorini dan Suprpto, 2011).

Metode ekstraksi meniran adalah bagian batang, daun, dan bunga meniran dibersihkan lalu diangin-anginkan sampai kering, dengan kadar air 5%. Herbal meniran yang telah kering dipotong-potong dan digiling sampai terbentuk serbuk (Mangunwardoyo, Cahyaningsih dan Usia, 2009). Tahap maserasi dilakukan dengan menimbang serbuk meniran sebanyak 5 gram, kemudian dilarutkan dengan 100 ml etanol



95%, dihomogenkan dan dibiarkan selama 24 jam (Pratiwi dan Rivali, 2015)

Meniran mengandung polifenol yaitu zat kimia yang umumnya terdapat pada tanaman dalam memberi warna hijau yang dihasilkan dari senyawa klorofil tanaman tersebut. Polifenol memiliki banyak gugus fenolik. Polifenol pada meniran jika ditambahkan pada asam amino yang terdapat pada *Whey Protein Isolate* (WPI) akan berinteraksi dan mempengaruhi viskositas, *foam overrun*, *foam stability* dan *optical microscopy*.

### 2.3 Ekstraksi dan Evaporasi

Umumnya, ekstraksi dilakukan menggunakan teknologi konvensional seperti ekstraksi pelarut (cair-cair dan padat-cair) dengan bantuan faktor eksternal (misalnya secara mekanis, penekanan dan sistem pemanasan) (Nayak, Dahmoune, Moussi and Remini, 2015). Berbagai jenis metode ekstraksi yang telah banyak digunakan, antara lain: *Supercritical fluid extraction* (SFE); *Pressurized liquid extraction* (PLE) atau *Microwave-assisted Extraction* (MAE); *Ultrasound extraction* (UAE) (Krishnaswamy, Orsat, Gariépy and Thangavel, 2013).

*Microwave-Assisted Extraction* (MAE) merupakan metode ekstraksi yang banyak digunakan dalam berbagai bidang analisa, seperti lingkungan, makanan dan pertanian (Wu, Hu, Li and Song, 2016). *Microwave-assisted extraction* (MAE) telah terbukti sebagai metode ekstraksi serbaguna dengan keunggulan kecepatan, sederhana dan biaya operasional yang murah (Li, Wei, You and Lydy, 2010). Keuntungan menggunakan MAE adalah waktu ekstraksi

singkat dan menggunakan pelarut yang lebih sedikit (Fang, Wang, Hao, Li and Guo, 2015).

Lopez-Avila and Castro (2014) memaparkan bahwa ada dua jenis sistem MAE komersial, yaitu: menggunakan mesin ekstraksi tertutup, dimana suhu dan tekanan dikontrol, dan yang lainnya dengan mesin ekstraksi terbuka yang berisi sampel kemudian dipasang ke ekstraktor dan microwave difokuskan pada sampel. Penelitian yang dilakukan oleh Wang, Xiao and Li (2008) percobaan MAE menggunakan ekstraksi terbuka oven microwave MAS-I (2450 MHz) dengan daya maksimum 1000 W yang bersifat monomode.

Metanol (atau etanol) dan air adalah pelarut konvensional untuk ekstraksi. Pelarut campuran metanol/air dan etanol/air pada MAE mampu menghemat penggunaan energi serta penggunaan pelarut organik dan waktu yang lebih sedikit (Wang, *et al.* 2008). Parameter yang harus diperhatikan pada metode MAE yaitu: jenis pelarut, daya microwave, suhu, ratio pelarut terhadap bahan dan waktu ekstraksi yang optimal (Fang, *et al.*, 2015).

Nayak, *et al.* (2015) menjelaskan ekstraksi adalah langkah penting untuk isolasi fitokimia bioaktif dari bahan tanaman sebelum dianalisa. Hasil ekstraksi meniran berupa ekstrak berwarna coklat dan kental. Delazar, Lutfun, Sanaz and Satyajit (2012) melaporkan bahwa energi microwave disebabkan oleh perpindahan molekul ion dan rotasi dipol. Perpindahan yang cepat itu menyebabkan gesekan yang pada akhirnya menghasilkan energi panas pada sampel sehingga dinding sel dan jaringan akan rusak dan senyawa fenolik terekstraksi.

Ekstrak cair meniran selanjutnya dievaporasi dengan menggunakan *microwave* evaporator. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Aji, Meriatna dan Ferani (2013) evaporasi ekstrak yang masih mengandung pelarut air dari dalam bahan hasil ekstraksi dilakukan untuk menguapkan air dan pelarut yang masih tersisa. Laju penguapan dipengaruhi oleh jumlah panas dan tekanan pada saat penguapan terjadi, dan perubahan lain yang mungkin terjadi di dalam bahan selama proses penguapan berlangsung. Evaporasi pada prinsipnya mempunyai dua fungsi yaitu merubah panas dan memisahkan uap yang terbentuk dari bahan cair. Penurunan kadar air dengan cara evaporasi (penguapan) bertujuan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan pembusukan serta memperpanjang masa simpan.

## **2.4 Interaksi *Whey Protein Isolate* (WPI) dan Ekstrak Meniran**

$\beta$ -lg pada protein whey memiliki banyak sisi ikat terhadap polifenol. Ikatan antara protein whey dan polifenol merupakan interaksi ikatan non-kovalen, yang terdiri dari interaksi hidrofobik, van der Waals-, jembatan hidrogen dan interaksi ionik (Nagy, Courtet-Compondu, Williamson, Rezzi, Kussmann and Rytz, 2012). Interaksi hidrofobik antara polifenol dengan sisi hidrofobik protein terjadi karena adanya ikatan hidrogen antara beberapa sisi aseptor-H dari protein dan gugus hidroksil dari polifenol (Le Bourvellec and Renard, 2012); (Asano, Shinagawa and Hashimoto, 1982). Interaksi ionik terjadi antara gugus bermuatan positif pada protein berupa rantai sisi asam amino lisin dan arginin dengan gugus hidroksil bermuatan negatif dari polifenol. Interaksi polifenol dan protein dipengaruhi oleh kadar polifenol dan protein,



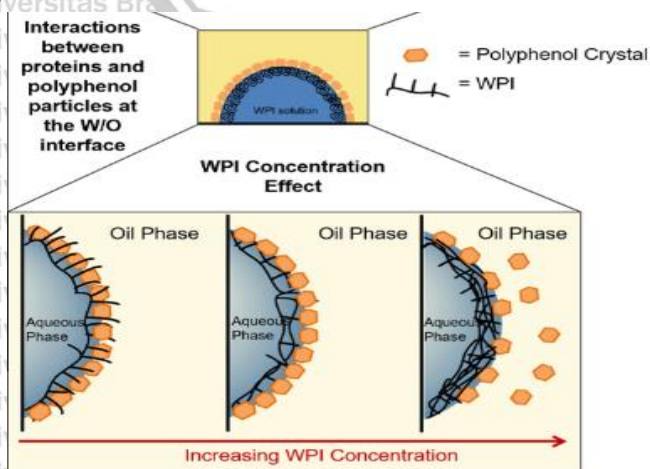
komposisi pelarut, suhu, kuat ionik dan pH (Le Bourvellec and Renard, 2012).

Thongkaew, Gibbs, Hinrichs and Weiss. (2014) menyatakan bahwa interaksi antara protein dan polifenol terdiri atas tiga tahapan yaitu: (i) molekul polifenol dapat berikatan dengan peptida protein setelah penambahan polifenol; (ii) jika jumlah polifenol cukup tinggi, dua molekul peptida mampu membentuk dimer polifenol dan membentuk endapan; (iii) beberapa molekul yang ditambahkan dan memiliki ukuran partikel kecil atau besar akan membentuk kompleks yang lebih besar.

Polifenol dengan berat molekul tinggi memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan protein secara lebih efektif dan membentuk endapan karena memiliki lebih banyak gugus fungsi fenolik. Demikian juga dengan protein yang memiliki struktur lebih terbuka dan fleksibel, dapat lebih mudah berinteraksi dengan polifenol (Le Bourvellec and Renard, 2012).

Hasil penelitian von Staszweski, Jara, Ruiz, Jagus, Carvalho and Pilosof (2012) pembentukan nanokompleks polifenol dengan  $\beta$ -laktoglobulin menurunkan tegangan permukaan dan elastisitas dilatasi permukaan film. Nilai tegangan permukaan dari kedua partikel nano protein-polifenol lebih rendah daripada protein murni. Interaksi dua komponen asam amino pada *Whey Protein Isolate* (WPI) dengan polifenol yang dihasilkan meniran akan membentuk sejenis biopolimer atau film dan akan terjadi interaksi hidrofobik (Rodríguez, *et al.*, 2015). Polifenol memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan protein melalui ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan interaksi ion-ion (Zembyla, Murray, Radford and Sarkar, 2019).

Polifenol pada meniran dan asam amino dari *Whey Protein Isolate* (WPI) jika dihomogenkan maka akan membentuk buih. Adanya buih menunjukkan terbentuknya film yang mampu memerangkap udara yang masuk ke larutan melalui adukan. Kekuatan dan stabilitas buih yang terbentuk dipengaruhi oleh kekuatan interaksi hidrofobik antara polifenol dengan asam amino tersebut (Rodríguez, *et al.*, 2015). Setelah polifenol dengan asam amino dihomogenkan maka akan terjadi perubahan terhadap viskositas (kekentalan) larutan yang dapat diketahui dengan mengukur viskositas menggunakan viskometer. Pada penelitian ini terbentuknya buih berkaitan juga dengan stabilitas buih (*foam stability*) dan pengamatan buih menggunakan mikroskop optik untuk mengetahui persamaan ukuran buih yang terbentuk merata pada setiap sisi atau tidak. Mekanisme interaksi protein dan polifenol pada Interface dapat dilihat pada Gambar 5 dibawah ini.



**Gambar 5.** Mekanisme Interaksi Protein dan Polifenol pada Interface (Zembyla, *et al.*, 2019)

## 2.5 Viskositas

Viskositas (kekentalan) adalah sifat properti dari sebuah fluida yang menggambarkan hambatan dari fluida tersebut saat mengalir. Semakin besar nilai koefisien viskositas maka semakin besar daya hambat dari fluida tersebut untuk mengalir (Yusibani, Hazmi dan Yuvita, 2017). Di dalam zat cair, viskositas dihasilkan oleh gaya kohesi antara molekul zat cair. Zat cair yang sangat kental memerlukan gaya yang lebih besar dan untuk fluida yang kurang kental diperlukan gaya yang lebih kecil. Tingkat kekentalan suatu zat cair juga bergantung pada beberapa faktor seperti, suhu, gaya tarik antar molekul dan ukuran serta jumlah molekul terlarut (Lubis, 2018).

El-Shibiny, Farrag, El-Garawany and Assem (2007) berpendapat bahwa viskositas whey protein dipengaruhi oleh suhu. Peningkatan suhu menyebabkan penurunan nilai viskositas. Hal ini dapat dikaitkan dengan denaturasi  $\beta$ -laktoglobulin pada saat proses pemanasan. Herceg and Lelas (2005) menyimpulkan bahwa viskositas yang paling tinggi memiliki kandungan protein (whey protein) yang tinggi. Hal ini karena protein yang larut dalam air membentuk globula, dimana pada bagian dalamnya bersifat hidrofobik dan bagian luarnya bersifat hidrofilik yang memiliki kapasitas pengikatan air yang besar.

Pengukuran viskositas menurut Aboughoush, Al-Mahasneh, Samhouri, Al-Holy and Herald (2008) dilakukan dengan menggunakan *Viscometer* Brookfield. Sampel whey protein diambil sebanyak 100 ml pada *beaker glass* lalu dilakukan uji viskometer dengan menggunakan *spindle* No. 1 dengan kecepatan 50-200 rpm.



## 2.6 Foam Overrun

Hakim, Purwadi dan Padaga (2013) mendefinisikan bahwasannya *foam overrun* merupakan daya pembusaan, kemantapan busa dan berkaitan penurunan tegangan permukaan. *Overrun* mencerminkan kemampuan busa dan kemantapan busa yang berkaitan dengan penurunan tegangan permukaan pada sistem yang terdiri atas udara dan air, yang disebabkan absorpsi oleh molekul protein. *Overrun* (OR) didefinisikan sebagai kemampuan untuk memasukkan udara dalam fase berlanjut. Protein dapat mencegah proses destabilisasi (stabilisasi) pada buih dan meningkatkan pembentukan buih secara keseluruhan (Marinova, Basheva, Nenova, Tamelska, Mirarefi, Campbel and Inanov, 2009). Absorpsi protein selama pembentukan buih pada antarmuka udara/air sangat menentukan *foam overrun* dan ukuran gelembung (Damoradan, 2006).

Tingkat absorpsi protein sebagai faktor terpenting dalam pembentukan buih, tergantung pada konsentrasi protein, berat dan struktur protein. Sifat-sifat pembuihan protein dipengaruhi oleh : *pre-treatment* dengan panas atau kimia, metode pembuihan, waktu pengadukan, sifat fisika dan kimia protein serta faktor lainnya seperti kuat ion atau pH. *Overrun* merupakan kapasitas udara yang terperangkap (Kuropata, Alexander and Ulrich, 2009). Pembentukan buih dilakukan dengan mengambil 20 ml sampel dan ditempatkan pada gelas ukur 100 ml. Sampel tersebut diaduk selama 3 menit menggunakan blender dengan kecepatan tinggi. Perhitungan buih yang terbentuk dilakukan setelah 30 detik proses pengadukan.

Data *foam overrun* menurut Zheng, Jia dan Jiang (2013) dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$OV (\%) = \frac{V_t}{V_o} \times 100\%$$

dimana:  $V_t$  = volume akhir larutan setelah diaduk (ml) dan  $V_o$  = volume awal larutan (ml).

*Overrun* yang lebih tinggi menandakan gelembung udara lebih besar dan kapasitas buih pada protein lebih baik (Tan, Chin, Yusof, Taip and Abdullah, 2015). Whey protein :  $\beta$ -laktoglobulin dan Caseinomacropetida (CMP) adalah agen pembentuk buih yang baik. Pembentukan buih dipengaruhi oleh absorpsi bahan pembuih.

## 2.7 Foam Stability

Protein sering digunakan sebagai agen pembentuk buih pada makanan karena berkontribusi baik dalam membentuk buih dan stabilitas buih (*foam stability*) (Norwood, Floch-Fouéré, Briard-Bion, Schuck, Croguennec and Jeantet, 2016). Stabilitas buih yang terbentuk dipengaruhi oleh kekuatan interaksi hidrofobik antara polifenol dengan asam amino (Rodríguez, *et al.*, 2015). Stabilitas buih dipengaruhi oleh: (i) tegangan permukaan; (ii) viskositas; (iii) sifat reologi permukaan; (iv) gaya permukaan (Marinova, Elka, Borianna, Mila, Amir, Bruce and Ivan, 2009; Rio, Drenckhan, Salonen and Langevin, 2014). Selain itu berdasarkan hasil penelitian Thohari, Jaya dan Ajeng (2020) kestabilan buih dipengaruhi oleh beberapa faktor lainnya seperti protein whey, lama penyimpanan, suhu, lama pengocokan.

Interaksi hidrofobik yang terjadi karena proses pengadukan protein dengan polifenol menyebabkan udara masuk ke larutan sehingga memudahkan terbentuknya buih

namun stabilitas buih ditentukan oleh viskositas larutan. Stabilitas buih yang rendah karena memiliki viskositas yang lebih rendah sehingga buih mudah pecah (Rodríguez, *et al.*, 2015). Menurut Sukanto dan Sudiyono (2009) kestabilan buih pada produk interaksi terjadi karena udara yang menembus ke dalam rongga molekul dapat tertahan dan tidak segera terjadi *bubble collaps* (pecahnya gelembung busa).

Stabilitas buih diukur menggunakan parameter FS yang berhubungan dengan waktu yang diperlukan untuk separuh volume buih segera setelah pengocokan/pengadukan. FS ditampilkan dalam satuan menit (Selmane, Vial and Djelveh, 2008). Stabilitas buih didefinisikan sebagai persentase volume buih yang tersisa setelah 30 menit dari volume buih tersisa (*foam overrun*). Waktu pengukuran tersebut umumnya digunakan sebagai waktu pengukuran optimum yang menandakan bahwa buih telah stabil/konstan. Data *foam stability* menurut Zheng, Jia dan Jiang (2013) dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$FS (\%) = \frac{V_t}{V_o} \times 100\%$$

dimana:  $V_t$  = volume akhir larutan setelah diaduk (ml) dan  $V_o$  = volume awal larutan (ml).

## 2.8 Optical Microscopy

*Optical microscopy* adalah pengukuran ukuran partikel mikro dengan menggunakan mikroskop optik. Mikroskop optik mempunyai cara untuk mengidentifikasi komponen tertentu dan menyelidiki interaksi antar komponen yang berbeda (Zhou, Cai, Tong and Wang, 2017). Pemanasan yang dilakukan untuk memperoleh senyawa polifenol jika ditambahkan dengan asam amino dari protein, akan



menghasilkan interaksi yang mempertahankan bentuk partikel. Sedangkan jika tidak ada pemanasan maka akan menghasilkan partikel yang tidak beraturan (Strauss and Gibson, 2004).

Struktur mikro protein/nanopartikel EGCG diamati dengan mikroskop optik dilengkapi dengan kamera digital. Satu tetes emulsi ditempatkan pada kaca mikroskop, ditutup dengan coverslip, dan kemudian diobservasi dibawah mikroskop. Emulsi diukur dengan menggunakan mesin analisa ukuran partikel (Liu, Wang, Hu, Cai and Qin, 2019). Pengukuran dengan mikroskop optik dilakukan untuk melihat homogenitas lapisan tipis yang terbentuk (Rahayu dan Muldarisnur, 2019).

Pengamatan mikroskopis pada buih yang terbentuk setelah pengadukan protein whey-polifenol meniran dapat dilakukan dengan cara mengambil sampel sebanyak 20 ml dan dihomogenkan selama 1 menit menggunakan *handmixer*. Diambil satu tetes buih pada *object glass*, kemudian ditutup menggunakan *cover glass*. Buih tersebut diamati menggunakan mikroskop optik dengan perbesaran 40x dan 100x untuk mengetahui bentuk buih dan persebaran buih yang terbentuk merata pada setiap sisi atau tidak (Rahayu, Purwadi, Radiati and Manab, 2015).

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian pengaruh penambahan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri L.*) terhadap viskositas, *foam* dan *optical microscopy* nano protein whey dimulai pada Bulan Januari 2021 sampai dengan Bulan Februari 2021 yang dilaksanakan pada:

1. Laboratorium Teknologi Hasil Ternak (THT) Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya untuk pembuatan ekstrak meniran, penambahan ekstrak meniran pada nano whey protein, analisa *foam* dan analisa mikroskopis pada *foam*.
2. Laboratorium Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan (FKIK) UIN Kampus 3, Kota Batu untuk analisa viskositas menggunakan Viscometer Cone and Plate (Brookfield, USA).

#### **3.2 Materi Penelitian**

Materi penelitian pengaruh penambahan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri L.*) terhadap viskositas, *foam* dan *optical microscopy* nano protein whey menggunakan bahan-bahan berupa *Whey Protein Isolate* (WPI) 90 *plain* yang diperoleh dari aplikasi belanja *online* di *Facebook*, tanaman meniran (*Phyllanthus niruri L.*) yang diperoleh dari Balai Materia Medica Batu, Malang, bahan kimia  $\text{NaN}_3$  dan aquades dari Laboratorium Panadia.

Alat-alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) (SHARP) untuk mengeskraksi meniran, timbangan digital (Hostwigh I2000),

*hotplate stirrer* (SBS), mikroskop optik (Olympus CX21FS1), viskometer (Brookfield DV3TLVCJ0), *mini handmixer* (Seniora), *object glass*, *cover glass*, gelas ukur (Pyrex), *beaker glass* (Herma), erlenmeyer (Duran), corong kaca, pipet tetes, kertas saring Whatman No.4 dengan diameter 125 mm, termometer, pengaduk, mikropipet 1 ml, kertas label, tisu dan *aluminium foil*.

### 3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode percobaan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Metode percobaan ini dipilih karena kondisi penelitian yang dilakukan di laboratorium relatif homogen, seperti suhu ruangan dengan rata-rata 28°C dan kelembapan 65%. Proses pembuatan sampel dan analisa uji nya dilakukan pada hari yang sama. Perlakuan pada penelitian ini berupa konsentrasi ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri L.*) yang ditambahkan pada nano protein whey yang berbeda yaitu P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> dan P<sub>3</sub>. Perlakuan ini dipilih berdasarkan pra-penelitian yang dilakukan sebelum penelitian utama dilakukan. Sedikitnya penambahan konsentrasi ekstrak meniran yang diberikan, menghasilkan interaksi pada rantai sisi asam amino protein whey. Jika jumlah polifenol cukup tinggi, dua molekul peptida mampu membentuk dimer polifenol dan membentuk endapan (Thongkaew, *et al.*, 2014). Model tabulasi data penelitian disajikan pada Tabel 2.



**Tabel 2. Model Tabulasi Data Penelitian**

Perlakuan	Ulangan		
	U <sub>1</sub>	U <sub>2</sub>	U <sub>3</sub>
P <sub>0</sub>	P <sub>0</sub> U <sub>1</sub>	P <sub>0</sub> U <sub>2</sub>	P <sub>0</sub> U <sub>3</sub>
P <sub>1</sub>	P <sub>1</sub> U <sub>1</sub>	P <sub>1</sub> U <sub>2</sub>	P <sub>1</sub> U <sub>3</sub>
P <sub>2</sub>	P <sub>2</sub> U <sub>1</sub>	P <sub>2</sub> U <sub>2</sub>	P <sub>2</sub> U <sub>3</sub>
P <sub>3</sub>	P <sub>3</sub> U <sub>1</sub>	P <sub>3</sub> U <sub>2</sub>	P <sub>3</sub> U <sub>3</sub>

Keterangan :

P<sub>0</sub> : Nano protein whey tanpa penambahan ekstrak meniran

P<sub>1</sub> : Nano protein whey dengan penambahan ekstrak meniran sebanyak 30 ug/ml (w/v)

P<sub>2</sub> : Nano protein whey dengan penambahan ekstrak meniran sebanyak 60 ug/ml (w/v)

P<sub>3</sub> : Nano protein whey dengan penambahan ekstrak meniran sebanyak 90 ug/ml (w/v).

Setiap sampel dalam penelitian ini menggunakan 5 g whey protein yang dilarutkan dengan aquades dan ditambahkan larutan ekstrak meniran sesuai perlakuan (P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> dan P<sub>3</sub>) hingga mencapai volume total 100 ml. Formulasi perlakuan ekstrak meniran yang ditambahkan pada protein whey dapat dilihat pada Tabel 3 berikut ini.

**Tabel 3.** Komposisi Whey Protein dan Larutan Ekstrak Meniran (modifikasi Rahayu, *et al.*, 2015)

Sampel	Whey Protein (g)	Larutan Meniran (ml)	Aquades (ml)
P0	5	-	100
P1	5	2	98
P2	5	4	96
P3	5	6	94
<b>Total (ml)</b>		100	

### 3.3.1 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan sebelum penelitian utama dilakukan, untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri* L.) terhadap viskositas, *foam overrun*, *foam stability* dan *optical microscopy* nano protein whey. Penelitian ini dipilih karena protein whey dari sisa pengolahan industri susu masih memiliki kandungan nutrisi terutama proteinnya yang tinggi, sehingga bermanfaat bagi kesehatan manusia khususnya pada sistem pencernaan (usus halus). Penambahan ekstrak meniran akan mempengaruhi sifat fungsional asam amino dari protein whey dalam menciptakan viskositas dan pembuihan. Jenis *Phyllanthus* yang terdapat di Indonesia adalah *Phyllanthus niruri* L. dan *Phyllanthus urinaria*. Tanaman meniran dikenal sebagai obat herbal tradisional di Indonesia dan dapat tumbuh di daerah tropis seperti Indonesia (Ekasari, 2011), sehingga kurang ada nya pengkajian terhadap penelitian pengaruh penambahan meniran pada nano protein whey di luar negeri. Sedangkan di Indonesia, penelitian yang dilakukan oleh

Nirwana (2013), pembuatan film layak makan dari protein whey dengan penambahan ekstrak herbal meniran sebagai antibakteri. Dari penelitian tersebut didapatkan hasil film layak makan yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba dengan adanya herbal meniran.

### 3.3.2 Penelitian Utama

Penelitian utama dilakukan dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan, serta sampel dianalisa dengan pengamatan variabel yaitu viskositas, *foam overrun*, *foam stability* dan *optical microscopy* sehingga dengan mengetahui penelitian terdahulu diharapkan dapat memperlancar dan mencegah kegagalan penelitian utama pengaruh penambahan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dengan metode *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) pada nano protein whey.

## 3.4 Variabel yang Diukur

Variabel yang diukur pada penelitian ini yaitu :

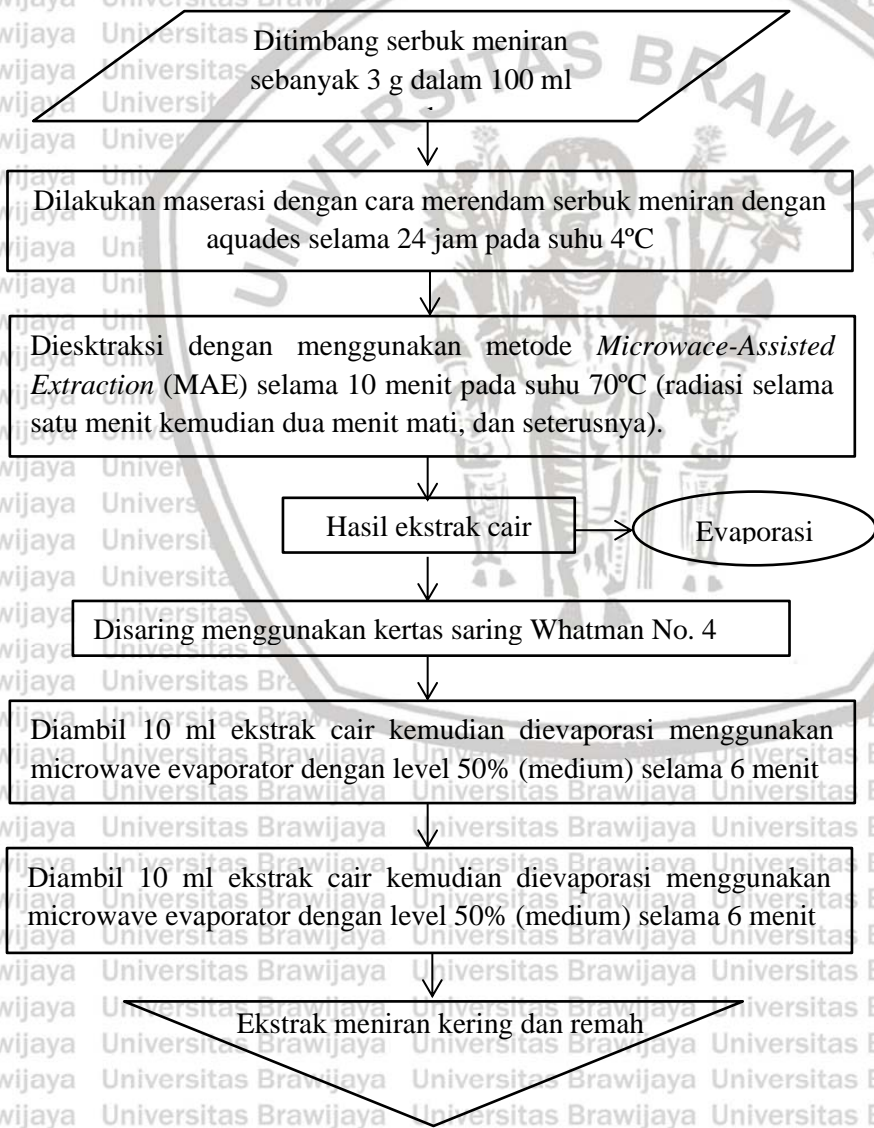
1. Analisa viskositas mengacu pada prosedur penelitian yang dilakukan Aboughoush, *et al.* (2008) dengan sedikit modifikasi menggunakan *Viscometer* Brookfield, dapat dilihat pada **Lampiran 1**.
2. Analisa *foam overrun* dan *foam stability* mengacu pada prosedur penelitian yang dilakukan Zheng, *et al.* (2014), dapat dilihat pada **Lampiran 2** dan **Lampiran 3**.
3. Analisa *optical microscopy* mengacu pada prosedur penelitian yang dilakukan Rahayu, Purwadi, Radiati and Manab (2015) dengan sedikit modifikasi menggunakan mikroskop optik



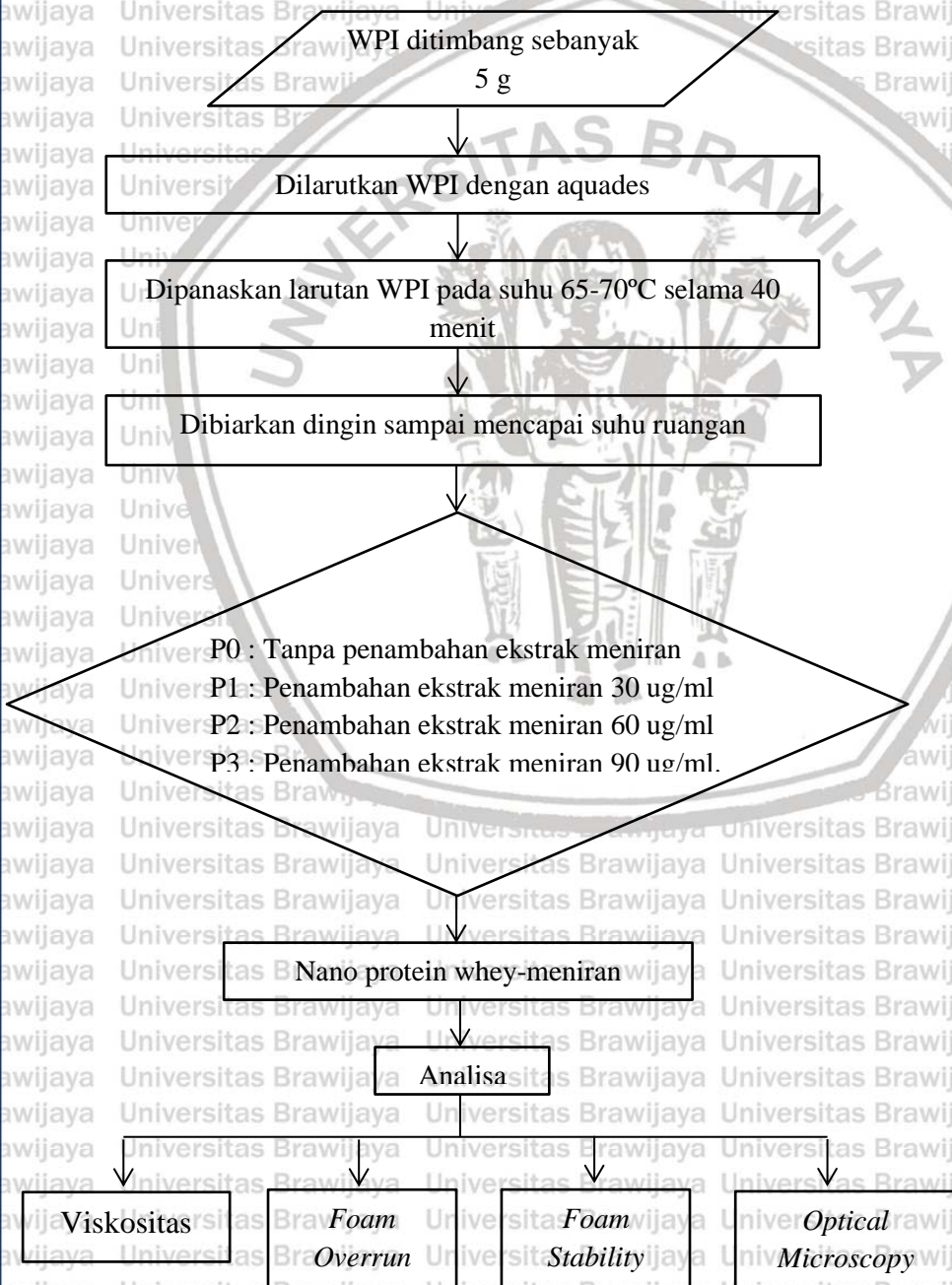
dilengkapi kamera dengan perbesaran 40x dan 100x, dapat dilihat pada **Lampiran 4**.

### **3.5 Prosedur Penelitian**

Prosedur penelitian ini dimulai dengan tahapan maserasi pada serbuk meniran dengan cara merendam 3 g meniran yang dilarutkan dengan 100 ml aquades lalu dihomogenkan. Maserasi dilakukan selama 24 jam. Setelah itu, larutan meniran diekstraksi dengan menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) selama 10 menit. Larutan tersebut diradiasikan ke dalam *microwave oven* pada suhu 70°C (radiasi selama satu menit kemudian dua menit mati, dan seterusnya hingga radiasi pada menit ke-10) untuk menjaga suhu agar tidak diatas 80°C dan mencegah terjadinya degradasi pada senyawa bioaktif meniran. Hasil ekstraksi meniran memiliki ciri-ciri kental (*crude extract*) dan berwarna cokelat pucat. Hasil ekstraksi ini kemudian dibiarkan dingin pada suhu ruangan, disaring menggunakan kertas saring dan disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 4°C. Ekstrak meniran cair yang dihasilkan sebanyak 10 ml dikeringkan dengan menggunakan evaporator suhu 50°C (medium) selama 6 menit untuk mengurangi kadar air meniran. WPI 90 ditimbang sebanyak 5 gram lalu dilarutkan dengan 100 ml aquades. Ekstrak meniran kering yang telah dievaporasi, ditambahkan sesuai perlakuan pada *Whey Protein Isolate* (WPI) 90 yang memiliki ukuran 4-6 nm. Hasil penambahan ekstrak meniran pada nano protein whey dianalisa dengan mengukur viskositas, *foam overrun*, *foam stability* dan *optical microscopy*. Prosedur penelitian ekstraksi dan evaporasi disajikan dalam Gambar 6a dan prosedur penelitian disajikan dalam Gambar 6b.



**Gambar 6a.** Prosedur Penelitian Ekstraksi dan Evaporasi



**Gambar 6b.** Prosedur Penelitian



### 3.6 Analisa Statistik

Data dihitung rata-ratanya, kemudian menggunakan analisis ragam. Apabila terdapat perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) atau sangat nyata ( $P < 0,01$ ), maka dianalisis lanjut dengan menggunakan DMRT (*Duncan Multiple Range Test*).

### 3.7 Batasan Istilah

**Ekstrak Meniran** : Hasil ekstraksi menggunakan metode MAE berupa cairan kental berwarna coklat tua dengan pH 6,4

**Evaporasi** : Pemanasan hasil ekstraksi menggunakan *microwave* dan evaporator pada suhu 50°C hingga kering dan bertekstur remah

**Foam Overrun** : Buih hasil pengadukan menggunakan *mini handmixer* selama 3 menit lalu diukur volume nya setelah 30 detik proses pengadukan

**Foam Stability** : Volume sisa buih yang diukur setelah 30 menit

**Microwave-Assisted Extraction** : Metode ekstraksi menggunakan *microwave* dengan pemanasan suhu 100°C selama 10 menit

**Optical Microscopy** : Gambar bentuk dan persebaran mikroskopis buih menggunakan

*Whey Protein  
Isolate 90*

mikroskop optik perbesaran 40x  
dan 100x

: Whey protein komersil berbentuk  
bubuk yang dilarutkan  
menggunakan aquades.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Pengaruh Penambahan Ekstrak Meniran pada Whey Protein Terhadap Viskositas

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan ekstrak meniran dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 0 ug/ml, 30 ug/ml, 60 ug/ml dan 90 ug/ml pada protein whey yang dipanaskan pada suhu 65-70°C selama 40 menit memberikan hasil berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap viskositas nano protein-flavonoid, dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Rataan viskositas penambahan ekstrak meniran pada protein whey

Perlakuan	Rataan $\pm$ SD (cP)
P0 (0 ug/ml)	10,42 <sup>b</sup> $\pm$ 0,87
P1 (30 ug/ml)	5,30 <sup>a</sup> $\pm$ 1,57
P2 (60 ug/ml)	7,50 <sup>ab</sup> $\pm$ 2,75
P3 (90 ug/ml)	4,21 <sup>a</sup> $\pm$ 2,32

Keterangan : Penambahan ekstrak meniran dengan konsentrasi yang berbeda pada protein whey memberikan notasi (a, ab, b) yang menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada masing-masing perlakuan ( $P < 0,05$ ).

Berdasarkan hasil analisis ragam diatas, bahwa penambahan ekstrak meniran dengan konsentrasi yang berbeda pada protein whey menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap viskositas nano protein-flavonoid. Viskositas yang paling tinggi terdapat pada protein whey tanpa penambahan ekstrak meniran (P0) yaitu 10,42 cP dan yang paling rendah terdapat pada protein whey dengan penambahan



ekstrak meniran 90 ug/ml (P3) yaitu 4,21 cP. Hal ini karena protein whey merupakan agen pembentuk viskositas dan memiliki sifat yang mudah larut dalam air. Penambahan ekstrak meniran pada protein whey, akan mengubah viskositas dan kelarutannya menjadi lebih rendah. Hecceg and Lelas (2005) viskositas yang paling tinggi memiliki kandungan protein yang tinggi pula, karena protein yang larut dalam air membentuk globula, dimana pada bagian dalamnya bersifat hidrofobik dan bagian luarnya bersifat hidrofilik yang memiliki kapasitas pengikat air yang besar.

Penambahan larutan ekstrak meniran pada whey protein dapat dipakai untuk memperbaiki viskositas dan meningkatkan manfaat kesehatan. Hasil penambahan ekstrak meniran pada whey protein menyebabkan interaksi hidrofobik pada protein dan polifenol yang berakibat pada penurunan stabilitas buih dan viskositas larutan. Li, Dai, Chen, Li, Li, Liu and McClements (2021) menyatakan protein dan polifenol membentuk suatu kompleks, utamanya dibentuk oleh interaksi hidrofobik dan ikatan hidrogen, sehingga terjadi perubahan konformasi protein dan polifenol serta penurunan hidrofobisitas permukaan.

Salah satu komponen penyusun terbanyak pada protein whey adalah  $\beta$ -laktoglobulin. Pada saat protein whey dipanaskan dengan suhu 65-70°C selama 40 menit akan menyebabkan denaturasi  $\beta$ -laktoglobulin yang berakibat pada penurunan viskositas. Sesuai dengan yang dijelaskan oleh El-Shibiny, Farrag, El-Garawany and Assem (2007) bahwa viskositas whey protein dipengaruhi oleh suhu. Peningkatan suhu menyebabkan penurunan nilai viskositas yang dapat dikaitkan dengan denaturasi  $\beta$ -laktoglobulin pada saat proses pemanasan.

Perlakuan P3 dengan penambahan ekstrak meniran sebanyak 90 ug/ml memiliki nilai viskositas yang paling rendah yaitu 4,21 cP. Diduga semakin banyak penambahan ekstrak meniran mengakibatkan perubahan yang lebih intensif terutama pada perubahan konformasi protein dan polifenol serta terjadinya penurunan hidrofobisitas permukaan akibat dari interaksi gugus hidrofob dengan senyawa fenol dari ekstrak meniran. Interaksi tersebut diduga menurunkan daya ikat air serta menurunkan interaksi hidrofobik diantara molekul protein whey sehingga terjadi penurunan daya alir larutan protein whey.

Hasil analisa lanjutan menggunakan DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) menjelaskan bahwa *Whey Protein Isolate* (WPI) tanpa penambahan ekstrak meniran memberikan nilai viskositas yang paling tinggi dibandingkan WPI dengan penambahan ekstrak meniran. WPI murni tanpa penambahan ekstrak meniran (P0) ini mengandung 90% protein yang artinya memiliki kohesi protein dan kapasitas pengikat air yang paling tinggi dibandingkan WPI dengan penambahan ekstrak meniran (P1,P2 dan P3). Kohesi protein dipengaruhi oleh kerapatan dan jarak antar molekul. Hal ini didukung oleh gambar *optical microscopy* pada Gambar 7, bahwa terdapat hubungan yang sinkron antara viskositas dengan gambar mikroskopis buih. Berdasarkan penelitian Herceg and Lelas (2005) tingginya kohesi protein pada whey protein memiliki kapasitas pengikat air yang tinggi pula, sehingga aliran larutan menjadi rendah (viskositas tinggi).

WPI murni tanpa penambahan ekstrak meniran dapat meningkatkan pembentukan buih secara keseluruhan. Tan, *et al.* (2015) menyatakan whey protein :  $\beta$ -laktoglobulin adalah agen pembentuk buih yang baik. Sebanding dengan hasil

penelitian yang terlampir pada Tabel 5. bahwa persentase daya buih (*foam overrun*) yang paling tinggi adalah WPI tanpa penambahan ekstrak meniran (P0) sebesar 325,83% . Jika dengan penambahan ekstrak meniran maka P1 dan P2 memiliki nilai *foam overrun* yang sama, namun penggunaan 30 ug/ml ekstrak meniran (P1) yang lebih sedikit sehingga efisien dalam menghasilkan *foam overrun* 325%.

#### 4.2 Pengaruh Penambahan Ekstrak Meniran pada Whey Protein Terhadap *Foam Overrun*

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan ekstrak meniran dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 0 ug/ml, 30 ug/ml, 60 ug/ml dan 90 ug/ml pada protein whey yang dipanaskan dengan suhu 65-70°C selama 40 menit memberikan hasil tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ) terhadap *foam overrun* nano protein-flavonoid, dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Rataan *Foam Overrun* penambahan ekstrak meniran pada protein whey

Perlakuan	Rataan $\pm$ SD (%)
P0 (0 ug/ml)	325,83 $\pm$ 1,44
P1 (30 ug/ml)	325,00 $\pm$ 0,00
P2 (60 ug/ml)	325,00 $\pm$ 0,00
P3 (90 ug/ml)	317,50 $\pm$ 12,99

Keterangan : Penambahan ekstrak meniran dengan konsentrasi yang berbeda pada protein whey menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata pada masing-masing perlakuan ( $P>0,05$ ).

Berdasarkan hasil analisis ragam diatas, bahwa penambahan ekstrak meniran dengan konsentrasi yang berbeda



menunjukkan tidak adanya pengaruh pada protein whey terhadap *foam overrun* nano protein-flavonoid. Data kemampuan membentuk buih nano protein-flavonoid dengan konsentrasi yang berbeda pada perlakuan P0, P1, P2 dan P3 menghasilkan nilai rata-rata  $325,83 \pm 1,44$ ,  $325 \pm 0$ ,  $325 \pm 0$  dan  $317,50 \pm 12,99$ . *Foam overrun* yang paling tinggi terdapat pada protein whey tanpa penambahan ekstrak meniran (P0) yaitu 325,83% dan yang paling rendah terdapat pada protein whey dengan penambahan ekstrak meniran 90 ug/ml (P3) yaitu 317,50%. Hal ini dikarenakan penambahan ekstrak meniran yang mengandung flavonoid pada whey protein akan berinteraksi dan saling berikatan sehingga mengubah struktur protein dan mempengaruhi kemampuannya sebagai agen pembentuk buih yang baik.

Ekstrak meniran diperoleh dengan mengekstraksi bubuk meniran sebanyak 3 gram dalam 100 ml aquades dengan menggunakan metode *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) suhu 100°C selama 10 menit. Ekstraksi meniran tersebut menghasilkan energi panas sehingga dinding sel dan jaringan akan rusak serta senyawa-senyawa yang terkandung pada meniran seperti flavonoid, fenolik, polifenol akan terekstraksi. Senyawa-senyawa ini akan berinteraksi dengan asam amino pada protein whey sehingga berdampak pada penurunan daya buih. Semakin banyak konsentrasi ekstrak meniran yang ditambahkan pada whey protein, maka semakin menurun persentase daya buih nya. Hasil analisa ini berdasarkan pada nilai P0 (tanpa penambahan meniran), P1 (30 ug/ml), P2 (60 ug/ml), P3 (90 ug/ml) yaitu 325,8%, 32%, 325%, 317,50%. Nagy, *et al.* (2012) menyatakan bahwa  $\beta$ -lg pada protein whey memiliki banyak sisi ikat terhadap polifenol. Ikatan antara protein whey dan polifenol merupakan interaksi ikatan non-

kovalen, yang terdiri dari interaksi hidrofobik, van der Waals-, jembatan hidrogen dan interaksi ionik. Hasil persentase daya buih pada penelitian ini bertentangan dengan penelitian yang dilakukan oleh von Staszewski, *et al.* (2014) bahwa interaksi dua komponen  $\beta$ -lg dan polifenol akan membentuk biopolimer/film yang menurunkan tegangan permukaan sehingga daya buih semakin tinggi.

Whey protein merupakan salah satu jenis surfaktan karena mampu menurunkan tegangan permukaan dan memiliki sifat aktif sebagai bahan pembentuk buih pada saat pengadukan melalui interaksi intermolekular. Surfaktan whey protein sangat bagus karena adanya gugus hidrofob dan hidrofil dalam strukturnya. Whey protein berperan dalam pembentukan buih melalui difusi dan pemekatan pada interface udara-cairan. Protein menempel pada interface dengan gugus hidrofob ke arah fase udara dan gugus hidrofil ke arah fase cair serta membentuk film interfacial yang sangat viskoelastis dalam memicu penurunan tegangan permukaan, viskositas dan kestabilan buih (Xiong, Ho, Bhandari and Bansal, 2020; Cao, Xiong, Cao and True, 2018).

Whey protein tanpa penambahan ekstrak meniran (P0) memiliki daya buih paling tinggi yaitu 325,8% karena tidak adanya interaksi asam amino terhadap polifenol dari meniran sehingga struktur protein tetap dalam menghasilkan buih yang baik. Cao, Xiong, Cao and True (2018) dan Xiong, *et al.* (2020) menyebutkan bahwa salah satu faktor yang mempengaruhi sifat *foaming* protein yaitu kadar protein. Whey protein merupakan protein globuler kecil yang memiliki hidrofobisitas yang relatif tinggi dan aktifitas permukaan yang baik selama *foaming*.

Pemanasan pada whey protein menyebabkan denaturasi  $\beta$ -laktoglobulin sehingga menurunkan kemampuan protein dalam membangun sifat fungsional nya yaitu sebagai pembentuk buih. Semakin tinggi suhu pemanasan whey protein, maka akan membentuk presipitat yang melayang-layang dalam larutan. Presipitat tersebut dapat saling bergabung membentuk agregat (partikel lebih besar) dan mengendap (Triyono, 2020). Agregat ini mampu menghambat pembentukan buih pada saat proses pengadukan sehingga menurunkan persentase buih. Selaras dengan Rullier, Novales and Axelos (2008) yang berpendapat bahwa agregat pada protein akibat pemanasan mempunyai struktur yang kompleks dengan ukuran ratusan nanometer. Akibat ukuran ini, maka kemampuan agregat untuk berdifusi pada permukaan berkurang dan menyebabkan penurunan buih. Namun, hal ini dapat ditanggulangi dengan menambahkan polifenol meniran yang mampu menurunkan elastisitas dilatasi film protein sehingga mencegah menurunnya buih melalui interaksi interfacial protein dan polifenol (Rodríguez, *et al.*, 2015).

Proses dan waktu pengadukan merupakan faktor penentu lainnya dalam membentuk buih. Pengadukan dilakukan dengan mengaduk sampel sebanyak 20 ml yang ditempatkan pada gelas ukur menggunakan *mini handmixer* selama 3 menit. Pengukuran *foam overrun* dilakukan 30 detik setelah proses pengadukan dengan melihat volume buih yang terbentuk. Kuropata, *et al.* (2009) menjelaskan sifat pembuihan pada protein dipengaruhi oleh *pre-treatment* dengan metode pembuihan dan waktu pengadukan. Padiernos, Lim, Swanson, Ross and Clark (2009) memaparkan bahwa waktu optimal pada saat pengadukan protein adalah 3 menit. Ketika pengadukan protein dilanjutkan sampai 8 menit, daya buih



menurun dengan cepat karena permukaan udara-air dalam membentuk buih terganggu oleh agitasi *mixer*.

Sampel whey protein tanpa penambahan ekstrak meniran memberikan persentase daya buih yang paling tinggi. Seiring dengan penambahan ekstrak meniran dengan konsentrasi yang berbeda (30 ug/ml, 60 ug/ml, 90 ug/ml) pada whey protein memberikan penurunan persentase daya buih yang dapat dilihat pada Tabel 5. Namun, penambahan ekstrak meniran dengan konsentrasi paling banyak yaitu 90 ug/ml (P3) menunjukkan nilai persentase stabilitas buih yang paling optimal. Hal ini diduga karena ikatan hidrofobik masih seimbang akibat interaksi ionik yang terjadi antara gugus bermuatan positif pada protein berupa rantai sisi asam amino lisin dan arginin dengan gugus hidroksil bermuatan negatif dari polifenol (Le Bourvellec and Renard, 2012) sehingga memiliki stabilitas buih yang baik.

#### **4.3 Pengaruh Penambahan Ekstrak Meniran pada Whey Protein Terhadap *Foam Stability***

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan ekstrak meniran dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 0 ug/ml, 30 ug/ml, 60 ug/ml dan 90 ug/ml pada protein whey yang dipanaskan dengan suhu 65-70°C selama 40 menit memberikan hasil tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ) terhadap *foam stability* nano protein-flavonoid, dapat dilihat pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Rataan *Foam stability* penambahan ekstrak meniran pada protein whey

Perlakuan	Rataan $\pm$ SD (%)
P0 (0 ug/ml)	233,33 $\pm$ 14,43
P1 (30 ug/ml)	225,83 $\pm$ 1,44
P2 (60 ug/ml)	225,00 $\pm$ 0,00
P3 (90 ug/ml)	234,17 $\pm$ 13,77

Keterangan : Penambahan ekstrak meniran dengan konsentrasi yang berbeda pada protein whey menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata pada masing-masing perlakuan ( $P > 0,05$ ).

*Foam stability* (stabilitas buih) adalah kemampuan buih dalam mempertahankan strukturnya dari waktu ke waktu dan dapat dievaluasi dengan cara mengukur volume buih yang terbentuk setelah proses pengadukan. Damodaran (2008); Sukanto dan Sudiyono (2009) memaparkan bahwa stabilitas buih tergantung pada sifat rheologis film protein pada interface. Kestabilan buih ini terjadi karena udara yang menembus ke dalam rongga molekul dapat tertahan dan tidak segera terjadi *bubble collaps* (pecahnya gelembung buih). *Foam stability* berkaitan dengan mikrostruktur, ukuran gelembung buih, distribusi, volume larutan dan lainnya. Salah satu contohnya adalah minuman kopi, terbentuknya *foam* pada permukaan merupakan ciri khas penyajian secangkir kopi yang berkualitas tinggi karena memberikan sifat sensorik (rasa dan tekstur) terhadap palatabilitas konsumen. Berhubungan dengan penjelasan diatas, maka *foam* perlu dipertahankan kekuatan dan stabilitasnya. Rendahnya tegangan permukaan dinilai dapat mempertahankan *foam stability* (Ferrari, Navarini, Liggieri and Liverani, 2007).

Berdasarkan hasil analisis ragam, bahwa penambahan ekstrak meniran dengan konsentrasi yang berbeda menunjukkan tidak adanya pengaruh pada whey protein terhadap *foam stability* nano protein-flavonoid. *Foam stability* yang paling tinggi terdapat pada protein whey dengan penambahan ekstrak meniran 90 ug/ml (P3) yaitu 234,17% dan yang paling rendah terdapat pada protein whey dengan penambahan ekstrak meniran 60 ug/ml (P2) yaitu 225%. Hal ini dikarenakan pada saat proses pengadukan ekstrak meniran pada protein whey menyebabkan adanya interaksi hidrofobik sehingga lapisan film pada gelembung udara menebal dan mencapai kestabilan buih yang lebih tinggi. Sifat pembuihan pada WPI dipengaruhi oleh konsentrasi protein, pH, pemanasan dan interaksi protein dengan bahan makanan lainnya (Oboroceanu, Wang, Magner and Auty, 2014). Interaksi antara asam amino protein whey dengan polifenol ekstrak meniran meningkatkan stabilitas buih karena penurunan hidrofobisitas permukaan (Cao, Xiong, Cao and True, 2018).

Stabilitas buih akibat interaksi asam amino dengan polifenol ini membentuk film yang memerangkap udara masuk ke larutan dengan adanya proses pengadukan. Film yang terbentuk memiliki lapisan yang lebih tebal dan kaku yang dapat dilihat dari hasil analisa mikroskopis buih (*optical microscopy*) di Gambar 7. Analisa mikroskopis buih WPI dengan penambahan ekstrak meniran pada perbesaran 100x (b2,c2 dan d2) terlihat memiliki lapisan yang lebih tebal dibandingkan dengan sampel tanpa penambahan ekstrak meniran. WPI merupakan bahan pembentuk buih yang baik, namun buih yang terbentuk oleh WPI tidak selalu stabil (Cao, *et al.*, 2018). Penggunaan 5 gram WPI pada setiap sampel



yang dilarutkan sesuai perlakuan hingga mencapai volume 100 ml dapat diperbaiki sifat interfacial dan stabilitas buih nya dengan cara penambahan senyawa fenol konsentrasi rendah dari ekstrak meniran.

Protein whey yang telah ditambah dengan ekstrak meniran 90 ug/ml memberikan persentase kestabilan buih yang optimal yaitu 234,17% artinya dapat mempertahankan bentuk buih sehingga buih tidak mudah pecah. Selaras dengan penelitian yang dilakukan (Diaz, Foegeding and Lila, 2020) bahwa dengan adanya penambahan polifenol pada WPI dapat meningkatkan stabilitas buih sebesar 1,9 sampai dengan 2,1 kali dibandingkan dengan stabilitas buih yang dibuat menggunakan WPI saja.

Faktor lain yang mempengaruhi stabilitas buih yaitu faktor eksternal (luar) seperti suhu dan kelembaban. Analisa *foam stability* pada sampel WPI yang ditambahkan ekstrak meniran dilakukan pada suhu ruangan 28°C dan kelembaban 65%. Li, Karakashev, Evans and Stevenson (2012) memaparkan bahwa stabilitas buih diidentifikasi dengan melihat *bubble collapse* terhadap kelembaban dan suhu lingkungan. Ketika lingkungan cenderung kering, maka laju *bubble collapse* jauh lebih tinggi dibandingkan dengan lingkungan yang lembab.

Data hasil analisa viskositas di Tabel 4. menunjukkan nilai viskositas yang optimal terdapat pada whey protein dengan penambahan ekstrak meniran 60 ug/ml (P2) sebesar 7,50 cP, sedangkan data *foam stability* yang optimal terdapat pada whey protein dengan penambahan konsentrasi ekstrak meniran 90 ug/ml (P3) sebesar 234,17%. Dapat disimpulkan bahwa *foam stability* berbanding lurus dengan viskositas. Rodríguez, *et al.* (2015) memaparkan bahwa stabilitas buih

yang rendah karena memiliki viskositas yang lebih rendah sehingga buih mudah pecah.

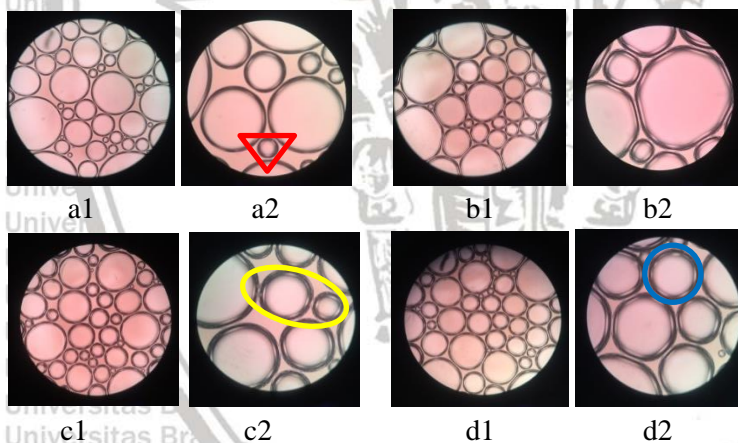
#### **4.4 Pengaruh Penambahan Ekstrak Meniran pada Whey Protein Terhadap *Optical Microscopy***

Pengujian mikroskopis buih yang terbentuk dilakukan dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40x dan 100x dengan preparasi sampel sebanyak satu tetes pada *object glass*. Pengujian mikroskopis buih ini bertujuan untuk mengetahui bentuk buih dan persebaran buih yang terbentuk merata pada setiap sisi atau tidak. Gambar *optical microscopy* buih protein whey-flavonoid yang terbentuk disajikan pada Gambar 7.

Hasil pengamatan mikroskopis buih whey protein dengan penambahan ekstrak meniran terlihat berbeda pada setiap sampel perlakuan. Hasil persebaran dan bentuk buih yang besar terdapat pada P1 yaitu protein whey tanpa adanya penambahan ekstrak meniran. Seiring dengan penambahan ekstrak meniran dengan konsentrasi yang berbeda (30ug/ml, 60 ug/ml, 90ug/ml), maka persebaran dan bentuk buih semakin merata. Hal ini dapat dilihat menggunakan mikroskop perbesaran 100x pada Gambar 7. b2,c2, d2.

Whey protein tanpa penambahan ekstrak meniran (P0) menghasilkan buih dengan bentuk yang cenderung besar dan tidak seragam serta persebarannya yang tidak merata. Pada saat tahap preparasi dengan menutup *object glass* yang telah ditetesi buih menggunakan *cover glass*, buih pada P0 lebih mudah pecah (*bubble collaps*) dibandingkan dengan perlakuan lainnya, sehingga diperlukan modifikasi dalam meningkatkan sifat fungsional whey protein sebagai pembentuk dan penstabil buih. Hal ini dapat dilakukan dengan penambahan ekstrak

meniran pada whey protein. Penambahan tersebut akan menghasilkan interaksi hidrofobik yang menurunkan tegangan permukaan dan elastisitas dilatasi permukaan film (von Staszweski, *et al.*, 2012).



**Gambar 7.** Bentuk dan persebaran mikroskopis buih pada protein whey-flavonoid dengan perbesaran 40x yaitu (a1) P0: tanpa penambahan ekstrak meniran; (b1) P1: penambahan ekstrak meniran 30 µg/ml; (c1) P2: penambahan ekstrak meniran 60 µg/ml; (d1) P3: penambahan ekstrak meniran 90 µg/ml dan mikroskopis buih dengan perbesaran 100x yaitu (a2) P0: tanpa penambahan ekstrak meniran; (b2) P1: penambahan ekstrak meniran 30 µg/ml; (c2) P2: penambahan ekstrak meniran 60 µg/ml; (d2) P3: penambahan ekstrak meniran 90 µg/ml.



Selama proses pemanasan pada suhu 65-70°C dengan lama waktu 40 menit, whey protein tidak membentuk agregat. Adanya senyawa polifenol akan menstabilkan struktur protein serta penurunan elastisitas permukaan film. Sehingga pada saat *foaming*, buih yang dihasilkan akan lebih bertahan lama dan tidak mudah pecah. Hasil ini dapat dilihat pada Gambar 7. b2, c2, d3 bahwa lapisan film pada buih terlihat lebih tebal. Kanakis, Hasni, Bourassa, Tarantilis, Polissiou and Tajmir-Riahi (2011); Wang, Zhang and Vardhanabhuti (2015) menyebutkan bahwa peningkatan konsentrasi polifenol dari ekstrak teh maupun karagenan mampu mengubah struktur protein dan penebalan lapisan film gelembung udara yang mengarah pada stabilitas struktur protein.

Analisa *optical microscopy* yang diberikan pada Gambar 7. seiring dengan penambahan ekstrak meniran yang semakin banyak maka kecenderungan lamella lebih tebal dan terjadi deformasi bentuk dari spherical menjadi polihedral. Terdapat bentuk dan ukuran buih yang tidak seragam, dengan penambahan polifenol maka tekanan udara pada gelembung yang kecil (Gambar a2. diberi tanda segitiga merah) akan berdifusi ke gelembung yang lebih besar (Gambar c2. dengan tanda oval kuning) menghasilkan gelembung udara yang hampir seragam (Gambar d2. dengan tanda lingkaran biru). Pada ketebalan film tertentu, film bisa pecah dan mengarah pada penggabungan gelembung akibat laplace tekanan gas yang menghasilkan pembentukan gelembung polihedral. Fakta penggabungan gelembung juga terjadi karena adsorpsi permukaan molekul. Adsorpsi yang lebih cepat mengarah pada pembentukan film yang lebih stabil dan meminimalkan penggabungan buih (Huppertz, 2010; Marinova, *et al.*, 2009). Laju *bubble collapse*, stabilitas buih dan struktur protein-

polifenol dapat dilihat dari bentuk yang seragam, kerapatan dan lapisan film buih yang menebal.

Penambahan ekstrak meniran pada whey protein dari P0 hingga P2 menunjukkan kecenderungan penurunan viskositas, *foam overrun* dan *foam stability*. Perlakuan P2 hingga P3 mengalami penurunan viskositas dan *foam overrun*, namun terjadi peningkatan pada *foam stability*. Hal ini diduga bahwa penambahan ekstrak meniran dengan konsentrasi yang tepat dapat berpengaruh positif pada modifikasi interaksi protein-polifenol. Selain itu, pada whey protein terdapat senyawa lain non-protein yang akan saling bersaing dengan peptida untuk berikatan dengan senyawa fenolik sehingga memicu penurunan kemampuan protein dalam membentuk dan menstabilkan buih. Ozdal, Capanoglu and Altay (2013); O'Regan, Ennis and Mulvihill (2009) menyampaikan bahwasannya senyawa fenolik sebagai cross-linkers pada molekul protein berinteraksi dengan ikatan nonkovalen dan kovalen melalui mekanisme protein kompleks. Senyawa lain non-protein yang terdapat pada whey dapat menggantikan peptida-peptida kecil sehingga terjadi kompetisi antara senyawa non-protein tersebut dengan peptida-peptida. Hal ini yang menyebabkan penurunan kemampuan protein untuk dapat berikatan dengan senyawa fenolik dari meniran. Akibatnya, adsorpsi interface menjadi lebih rendah dan lapisan pada gelembung udara dengan analisa *optical microscopy* menjadi lebih tipis.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Hasil penelitian penambahan ekstrak meniran 90 ug/ml pada nano protein whey mampu mempertahankan sifat fisik protein whey terhadap viskositas optimal, daya buih (*foam overrun*), stabilitas buih (*foam stability*) dan *optical microscopy* dengan bentuk, persebaran *foam* seragam serta lamella yang cenderung tebal.

#### **5.2 Saran**

Penambahan ekstrak meniran sebagai pangan fungsional dapat diaplikasikan pada whey protein dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap komponen kimia nano-protein flavonoid seperti kadar protein, lemak, total padatan.



## DAFTAR PUSTAKA

(IFST) Institute of Science and Technology. 2006. *Nanotechnology*.

<https://www.ifst.org/resources/information-statements/nanotechnology> (Diakses tanggal 4 Agustus 2020)

Abd El-Salam, M. H., A. F. Farrag, H. M. El-Etriby and F. M. Assem. 2007. Foaming Properties of Casein Glycomacropeptide in the Presence of  $\iota$ - and  $\kappa$ -Carrageenans. *Int. J. Dairy Sci.* 2 : 159-165.

<https://scialert.net/abstract/?doi=ijds.2007.159.165>

Abughoush, M., M. Al-Mahasneh, M. Samhour, M. Al-Holy and T. Herald. 2008. Formulation and Fuzzy Modeling of Viscosity of an Orange-Flavored Carboxymethylcellulose-Whey Protein Isolate Beverage. *International Journal of Food Engineering*. 4(7) : 1-13.

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1471-0307.12498>

Aji, A., Meriatna dan A. S. Ferani. 2013. Pembuatan Pewarna Makanan dari Kulit Buah Manggis dengan Proses Ekstraksi. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*. 2(2) : 1-15.

<https://ojs.unimal.ac.id/index.php/jtk/article/view/45>

Aloys, H., S. A. Korma, T. M. Alice, N. Chantal, A. H. Ali, S. M. Abed and H. Ildephonse 2016. Microencapsulation by Complex Coacervation: Methods, Techniques, Benefits, and Applications - A Review. *American Journal of Food Science and Nutrition Research*. 3(6) : 188-192.

<http://www.openscienceonline.com/author/download?paperId=3564&stateId=8000&fileType=3>

Arriaga, T. V. 2011. *Controlled and tailored denaturation and aggregation of whey proteins* [Disertasi]. Instituto Superior Tecnico. Universidade Tecnica de Lisboa.  
<https://www.semanticscholar.org/paper/Controlled-and-tailored-denaturation-and-of-whey-Mateus/22dc4982fb1f7032f74bfa78c617ef7e68efebd4>

Asano, K., K. Shinagawa and N. Hashimoto. 1982. Characterization of Haze-Forming Proteins of Beer and Their Roles in Chill Haze Formation. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 40 : 147–154.  
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1094/ASBCJ-40-0147>

Badan POM RI. 2006. *Meniran Phyllanthus niruri (Serial Data Ilmiah Terkini Tumbuhan Obat. Direktorat Obat Asli Indonesia*. 15 hal.  
[http://hukor.kemkes.go.id/uploads/produk\\_hukum/KM\\_K\\_No.HK.01.07-MENKES-187-2017\\_ttg\\_Formularium\\_Ramuan\\_Obat\\_Tradisional\\_Indonesia.pdf](http://hukor.kemkes.go.id/uploads/produk_hukum/KM_K_No.HK.01.07-MENKES-187-2017_ttg_Formularium_Ramuan_Obat_Tradisional_Indonesia.pdf)

Baeza, R. I., C. C. Sanchez, J. M. R. Patino and A. M. R. Pilosof. 2005. Interactions Between  $\beta$ -lactoglobulin and Polysaccharides at the Air–Water Interface and the Influence on Foam Properties. In *E. Dickinson (Ed.), Food Colloids: Interactions Microstructure and Processing*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry. 301–316.  
<https://pubs.rsc.org/en/content/chapter/bk9780854046386-00301/978-0-85404-638-6>

Cao, Y., Y. L. Xiong, Y. Cao and A. D. True. 2018. Interfacial Properties of Whey Protein Foams as Influenced by Preheating and Phenolic Binding at Neutral pH. *Food Hydrocolloids*. 82 : 379-387.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/am/pii/S0268005X17321665>

Carvalho, A. F. and J. Maubois. 2010. Applications of membrane technologies in the dairy industry, in Engineering aspects of milk and dairy products. *J. Coimbra. Teixeira, J., Editor*. CRC Press: Boca Raton. 33-56.

<https://www.routledge.com/Engineering-Aspects-of-Milk-and-Dairy-Products/Coimbra-Teixeira/p/book/9781420090222>

Christiansen, K. F., G. E. Vegarud, T. Langsrud and M. R. Ellekjaer. 2004. Hydrolysed whey proteins as emulsifiers and stabilisers in high-pressure processed dressings. *Food Hydrocolloids*. 18 (5) : 757-767.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X03002066>

Dalimarta. S. 2002. *Atlas tumbuhan Obat Indonesia*. (Jilid II) 134-138. Yogyakarta : Pustaka Kartini.

<https://books.google.co.id/books?id=vmrbQE4jfYcC&printsec=copyright&hl=id>

Damodaran, S. and A. Paraf. 1997. *Food Protein and Their Application*. Marcel Dekker, Inc. New York.

<https://www.semanticscholar.org/paper/Food-proteins-and-their-applications%3A-Edited-by-S.-Fox/778754958066a23e92a3a08bfcaa4af3b3d6b561>

de Wit, J. N. 2001. *Lecturer's Handbook on Whey and Whey Products*. European Whey Products Association. Belgium.





[http://ewpa.euromilk.org/fileadmin/user\\_upload/Public\\_Documents/EWPA\\_Publications/Lecturer's\\_Handbook\\_on\\_Whey.pdf](http://ewpa.euromilk.org/fileadmin/user_upload/Public_Documents/EWPA_Publications/Lecturer's_Handbook_on_Whey.pdf)

Delazar, A., N. Lutfun, H. Sanaz and D. S. Satyajit. 2012. *Microwave-Assisted Extraction in Natural Products Isolation. Methods in Molecular Biology*. 864. Springer Science : New York.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22367895/>

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1978. *Materia Medika Indonesia*, Jilid II. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

<https://adoc.pub/materia-medika-indonesia.html>

Diaz, J. T., E. A. Foegeding and M. A. Lila. 2020. Formulation of Protein-Polyphenol Particles for Applications in Food Systems. *Food and Function*. 11(6) : 5091-5104.

<https://www.semanticscholar.org/paper/Formulation-of-protein-polyphenol-particles-for-in-Diaz-Foegeding/cee00178c001b1cfb4278b9416c7610c25111081>

Duncan, T. V. 2011. Applications of Nanotechnology in Food Packaging and Food Safety: Barrier Materials, Antimicrobials and Sensors. *J. Colloid Interface Sci*. 363(1):1-24.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021979711008642>

Dzulfia, L., M. Damiyanti dan E. Herda. 2016. Pengaruh Susu Sapi dan Protein Whey Terhadap Kekerasan Email Gigi Setelah Demineralisasi. *Jurnal Material Kedokteran Gigi*. 2(5) : 28-35.

<http://jurnal.pdgi.or.id/index.php/jmkg/article/view/250/220>

Ekasari, W. 2011. *Sistem Informasi Tanaman Obat*. Universitas Airlangga : Surabaya

El-Shibiny, S., A. F. Farrag, G. El-Garawany and F. M. Assem. 2007. Rheological and Functional Properties of Whey Protein Concentrate and  $\beta$ -lactoglobulin and  $\alpha$ -lactalbumin Rich Fractions. *International Journal of Dairy Science*. 2 : 196-206.

<https://scialert.net/fulltext/?doi=ijds.2007.196.206>

Fang, X., J. Wang, J. Hao, X. Li and N. Guo. 2015. Simultaneous Extraction, Identification and quantification of phenolic compounds in *Eclipta prostrata* Using Microwave-assisted extraction Combined with HPLC-DAD-ESI-MS/MS. *Food Chemistry*. 188 : 527-536.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814615007712>

Ferrari, M., L. Navarini and L. Liggieri, F. Ravera and F. Suggi. 2007. Interfacial Properties of Coffe-Based Beverages. *Food Hydrocolloids*. 21(8) : 1374-1378.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X06002645>

Fioramonti, S. A., A. A. Perez, E. E. Aringoli, A. C. Rubiolo and L. G. Santiago. 2014. Design and Characterization of Soluble Biopolymer Complexes Produced by Electrostatic Self-assembly of A Whey Protein Isolate and Sodium Alginate. *Food Hydrocolloids*. 35 : 129-136.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X13001367>

Fox, P. F., T. P. Guinee, T. M. Cogan and T. P. Guinee. 2000. *Fundamentals of Cheese Science*. Aspen Publishers, Inc. New York.

<https://www.springer.com/gp/book/9780834212602>

Garba, U. and S. Kaur. 2014. Protein Isolates : Production, Functional Properties and Application. *International Journal of Current Research and Review*. 6(3) : 35-45.

[http://ijcrr.com/article\\_html.php?did=961](http://ijcrr.com/article_html.php?did=961)

Hakim, L., Purwadi dan M. C. H. Padaga. 2013. Penambahan Gum Guar pada Pembuatan Es Krim Instan Ditinjau dari Viskositas, *Overrun* dan Kecepatan Meleleh. *Jurnal Peternakan*. 1 : 1-10.

<https://fapet.ub.ac.id/wp-content/uploads/2013/04/Penambahan-Gum-Guar-Pada-Pembuatan-Es-Krim-Instan-Ditinjau-Dari-Viskositas-Overrun-Dan-Kecepatan-Meleleh.pdf>

Hambraeus, L. 2003. *Nutritional aspects of milk proteins*, in *Advanced dairy chemistry I: proteins*, P.F.a.M. Fox, P.L.H. , Editor. Kluwer Academy: New York.

[https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4419-8602-3\\_18](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4419-8602-3_18)

Harna, C., C. M. Kusharto dan K. Roosita. 2017. Intervensi Susu Tinggi Protein Terhadap Tingkat Konsumsi Zat Gizi Makro Dan Status Gizi Pada Kelompok Usia Dewasa. *Jurnal MKMI*. 13(4) : 354-361.

<https://journal.unhas.ac.id/index.php/mkmi/article/view/3157/pdf>

Herceg, Z. and V. Lelas. 2005. The Influence of Temperature and Solid Matter Content on The Viscosity of Whey Protein Concentrates and Skim Milk Powder Before and After Tribomechanical Treatment. *Journal of Food Engineering*. 66 : 433-438.



<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0260877404001773?via%3Dihub>

Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid III. Badan Litbang Kehutanan. Departemen Kehutanan. Jakarta.

[https://books.google.com/books/about/Tumbuhan\\_berguna\\_Indonesia.html?id=nm8IAAAAMAAJ](https://books.google.com/books/about/Tumbuhan_berguna_Indonesia.html?id=nm8IAAAAMAAJ)

Huppertz, T. 2009. Foaming Properties of Milk : A Review of the Influence of Composition and Processing. *International Journal of Dairy Technology*. 63(4) : 477-488.

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1471-0307.2010.00629.x>

Hutama, R. F. dan R. Andoyo. 2019. Produksi Whey Protein Concentrate (WPC) Terdenaturasi Menggunakan Beberapa Metode Preparasi. *Seminar Nasional Dalam Rangka Dies Natalis UNS Ke 43 Tahun 2019*. 3(1) : 39-46.

<https://docplayer.info/203322931-Produksi-whey-protein-concentrate-wpc-terdenaturasi-menggunakan-beberapa-metode-preparasi.html>

Jumini, S. 2017. Nanoteknologi Manivestasi Nanosciences. *Jurnal Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat* III. 119-206.

<https://ojs.unsiq.ac.id/index.php/ppkm/article/view/423/252>

Kanakis, C. D., I. Hasni, P. Bourassa, P. A. Tarantilis, M. G. Polissiou and H. Tajmir-Riahi. 2011. Milk  $\beta$ -lactoglobulin Complexes with Tea Polyphenols. *Food Chemistry*. 127 : 1046-1055.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814611001828?via%3Dihub>

Kardinan A dan F. R. Kusuma. 2004. *Meniran Menambah Daya Tahan Tubuh Alami*. Jakarta: Agromedia Pustaka.

<https://agromedia.net/meniran-penambah-daya-tahan-tubuh-alami/>

Kassem, J. M. 2015. Future Challenges of Whey Proteins. *International Journal of Dairy Science*. 10(4) : 139-159.

<https://scialert.net/qredirect.php?doi=ijds.2015.139.159&linkid=pdf>

Krishnaswamy, K., V. Orsat, Y. Gariépy and K. Thangavel. 2012. Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Antioxidants from Grape Seeds (*Vitis vinifera*). *Food and Bioprocess Technology*. 6 : 441-455.

<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s11947-012-0800-2.pdf>

Kuropata, M., T. Alexander and K. Ulrich. 2009. Impact of pH on The Interactions Between Whey and Egg White Proteins as Assessed by The Foamability of Their Mixtures. *Food Hydrocolloids*. 23 : 2174-2181.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.05.001>

le Bourvellec, C. and C. M. G. C. Renard. 2012. Interactions Between Polyphenols and Macromolecules: Quantification Methods and Mechanisms. *Critical Review in Food Science and Nutrition*. 52 : 213-248.

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2010.499808>

Li, C., T. Dai, J. Chen, X. Li, T. Li, C. Liu and D. J. McClements. 2021. Protein-Polyphenol Functional Ingredients : Foaming Properties of Lactoferrin are Enhanced by Forming Complexes with Procyanidin. *Journal Food Chemistry*. 339 : 128145.

[https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308-8146\(20\)32007-0](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308-8146(20)32007-0)

Li, H., Y. Wei, J. You and M. J. Lydy. 2010. Analysis of Sediment-Associated Insecticides Using Ultrasound Assisted Microwave Extraction and Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Talanta*. 83(1) : 171–177.

[https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039-9140\(10\)00697-1](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039-9140(10)00697-1)

Li, X. S. I. Karakashev, G. M. Evans and P. Stevenson. 2012. Effect of Environmental Humidity on Static Foam Stability. *Langmuir*. 28 (9) : 4060-4068.

<https://doi.org/10.1021/la205101d>

Liu, G., Q. Wang, Z. Hu, J. Cai and X. Qin. 2019. Maillard-Reacted Whey Protein Isolates and Epigallocatechin Gallate Complex Enhance the Thermal Stability of the Pickering Emulsion Delivery of Curcumin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 67 : 5212-5220.

<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b00950>

Lopez-Avila, V. and M. D. L. D. Castro. 2014. Microwave-Assisted Extraction. *Journal Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. Waltham, MA: Elsevier. 1-17.

<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.11172-2>

Lubis, N., A. 2018. Pengaruh Kekentalan Cairan Terhadap Waktu Jatuh Benda Menggunakan *Falling Ball Method*. *Jurnal FISITEK*. 2(2) : 26-32.

<https://core.ac.uk/download/pdf/266977729.pdf>

Madureira, A., T. Tavares, A. M. P. Gomes, M. E. Pintado and X. Malcata. 2010. Physiological properties of bioactive peptides obtained from whey proteins. *Journal of Dairy*



Science. 93(2) : 437-455.  
[https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022-0302\(10\)71487-9](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022-0302(10)71487-9)

Manab, A., M. E. Sawitri dan K. U. A. Awwaly. 2017. *Edible Film Protein Whey (Penambahan Lisozim Telur dan Aplikasi di Keju)*. UB Press : Malang. (Milik Pribadi)

Mangunwardoyo, W., E. Cahyaningsih dan T. Usia. 2009. Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Antimikroba Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 7(2) : 57-63.  
<http://jifi.farmasi.univpancasila.ac.id/index.php/jifi/article/view/372/257>

Marinova, K. G., E. S. Basheva, B. Nenova, M. Tamelska, A. Y. Mirarefi, B. Campbell and I. B. Ivanov. 2009. Physico-chemical factors controlling the foamability and foam stability of milk proteins: sodium caseinate and whey protein concentrates. *Food Hydrocolloids*. 23(7) : 1864-1876. <https://directory.dce.unisofia.bg/files/publications/2009/2009-04-KM-EB-BN-MT-Foam-Milk-Proteins.pdf>

Morris, V. 2007. Nanotechnology Food. *IUFoST Scientific Information Bulletin*. 1-7.  
<https://www.ifst.org/resources/information-statements/nanotechnology>

Nagy, K., M. Courtet-Compondu, G. Williamson, S. Rezzi, M. Kussmann and A. Rytz. 2012. Non-Covalent Binding of Protein to Polyphenols Correlates with Their Amino Acid Sequence. *Journal Food Chemistry*. 132(3) : 1333-1339.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814611017171?via%3Dihub>

Nayak, B., F. Dahmoune, K. Moussi and H. Remini. 2015. Comparison of Microwave, Ultrasound and Accelerated-assisted Solvent Extraction for Recovery of Polyphenols from Citrus sinensis Peels. *Journal Food Chemistry*. 187 : 507-516.

[https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308-8146\(15\)00627-5](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308-8146(15)00627-5)

Ng-Kwai-Hang, K. F. 2011. *Milk Proteins-heterogeneity, Fractionation and Isolation*. In: Roginski H, Fuquay JW, Fox PF, editors, *Encyclopedia of Dairy Sciences*. London: Academic Press. pp. 1881-1894.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00429-5>

Nirwana, D. 2013. *Film Layak Makan Protein Whey dengan Ekstrak Herba Meniran (Phyllanthus niruri L.) Sebagai Antibakteri*. [Tesis]. Universitas Sumatera Utara, Medan.

<https://docplayer.info/97311528-Film-layak-makan-protein-whey-dengan-ekstrak-herba-meniran-phyllanthus-niruri-l-sebagai-antibakteri-tesis-oleh-dian-nirwana-harahap-kim.html>

Norwood, E., C. L. Floch-Fouéré, V. Briard-Bion, P. Schuck, T. Croguennec and R. Jeantet. 2016. Structural markers of the evolution of whey protein isolate powder during aging and effects on foaming properties. *J. Dairy Sci.* 99 : 5265-5272.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030216302582>

O'Regan, J., M. P. Ennis and D. M. Mulvihill. 2009. Milk Proteins. *Handbook of Hydrocolloids*. 298-358.

<http://dx.doi.org/10.1533/9781845695873.298>

Onwulata, C. I., S. Isobe, M. Tomasula and P. H. Cooke. 2006. Properties of Whey Protein Isolates Extruded

Under Acidic and Alkaline Conditions. *J. Dairy Science*. 89(71-81).

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030206720707>

Ozdal, T., E. Capanoglu and F. E. Altay. 2013. A Review on Protein–Phenolic Interactions and Associated Changes. *Food Research International*. 51 : 954–970.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996913001026?via%3Dihub>

Padiernos, C. A., S. Y. Lim, B. G. Swanson, C. F. Ross and S. Clark. 2009. High Hydrostatic Pressure Modification of Whey Protein Concentrate for Use in Low-Fat Whipping Cream Improves Foaming Properties. *Journal Dairy Science*. 92 : 3049-3056.

<http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022030209706216/pdf>

Pangestu, R. F., A. M. Legowo, A. N. Al-Baarri dan Y. B. Pramono. 2017. Antioksidan, pH, Viskositas, Vaibilitas Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Yogurt Powder Daun Kopi dengan Jumlah Karagenan yang Berbeda. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 6(2) : 78-83.

<http://jatp.ift.or.id/index.php/jatp/article/viewFile/185/185>

Pratiwi, E. dan H. Rivai. 2015. Pembuatan dan Karakteristik Ekstrak Air Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn). *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*. 3(2) : 54-59.

<https://ejournal.stifarriau.ac.id/index.php/jpfi/article/download/144/17>

Qorriaina, R., L. C. Hawa dan R. Yulianingsih. 2015. Aplikasi Pra-Perlakuan *Microwave Assisted Extraction* (MAE) Pada Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*)



- Menggunakan Rotary Evaporator (Studi Pada Variasi Suhu dan Waktu Ekstraksi). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. 3(1) : 32-38.  
<https://jbkt.ub.ac.id/index.php/jbkt/article/view/172/151>
- Rahayu, P. P., Purwadi, L. E. Radiati and A. Manab. 2015. Physico Chemical Properties of Whey Protein and Gelatine Biopolymer Using Tea Leaf Extract as Crosslink Materials. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*. 3(3) : 224-236.  
<http://dx.doi.org/10.12944/CRNFSJ.3.3.06>
- Rahayu, S. dan Muldarisnur. 2019. Morfologi Dan Sifat Optik Lapisan Tipis Opal yang Dideposisi Menggunakan Metode *Modified Vertical Deposition*. *Jurnal Fisika Unand*. 8(1) : 1-5.  
<http://jfu.fmipa.unand.ac.id/index.php/jfu/article/view/382/344>
- Rio, E., W. Drenckhan, A. Salonen and D. Langevin. 2014. Unusually stable liquid foams. *Advances in Colloid and Interface Science*. 205 : 74-86.  
[https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001-8686\(13\)00138-3](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001-8686(13)00138-3)
- Rivai, H., R. Septika dan A. Boestari. 2013. Karakterisasi Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dengan Analisa Fluoresensi. *Jurnal Farmasi Higea*. 5(2) : 15-23.  
<https://www.jurnalfarmasihigea.org/index.php/higea/article/download/84/81>
- Riwayat, I. 2007. Analisa Resiko Pengaruh Partikel Nano Terhadap Kesehatan Manusia. *Momentum*. 3(2) : 17-20.  
<https://publikasiilmiah.unwas.ac.id/index.php/MOME/NTUM/article/view/610/726>

Riwayati, I. 2007. Pemanfaatan Teknologi Nano di dalam Industri Pengolahan Bahan Makanan. *Momentum* 3(2) : 1-4.

<https://publikasiilmiah.unwahas.ac.id/index.php/MOMENTUM/article/view/614/730>

Rizal, Z., F. Ledia dan H. Rivai. 2010. Pengaruh Cara Pengeringan Oven Dan Microwave Terhadap Perolehan Kadar Senyawa Fenolat Dan Daya Antioksidan Dari Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.). *Jurnal Farmasi Higea*. 2(1) : 63-72.

<https://www.jurnalfarmasihigea.org/index.php/higea/article/download/28/27>

Rodríguez, S. D., Mariana von Staszewski and M. R. Pilosof. 2015. Green tea polyphenols-whey proteins nanoparticle and foaming behavior. *Food Hydrocolloids*. 50 : 108-115.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X15001654>

Rullier, B., B. Novales and M. A. V. Axelos. 2008. Effect of Protein Aggregates on Foaming Properties of  $\beta$ -lactoglobulin. *Journal Physicochemical and Engineering Aspects*. 330 : 96-102.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0927775708004925>

Sarkar, A., K. K. T. Goh, R. P. Singh and H. Singh. 2009. Behaviour of an oil-in-water emulsion stabilised by  $\beta$ -lactoglobulin in an in vitro gastric model. *Food Hydrocolloids*. 23(6) : 1563-1569.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X08002592>

Selmane, D., C. Vial and G. Djelveh. 2008. Extraction of Proteins from Slaughterhouse By-products: Influence of Operating Conditions on Functional Properties. *Meat Science*. 79 : 640–647.

[https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309-1740\(07\)00333-6](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309-1740(07)00333-6)

Shakinaz, A. E. S., A. A. Refaat and S. T. E. Sheltawy. 2010. Production of Biodiesel using Microwaves Technique. *J. Advanced Research*. 1 : 309-314.

<https://core.ac.uk/download/pdf/82819034.pdf>

Strauss, G. and S.M. Gibson. 2004. Plant Phenolics as Cross-linkers of Gelatin Gels and Gelatin-based Coacervates for Use as Food Ingredients. *Journal Food Hydrocolloids*. 18 : 81-89.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X03000456>

Subarnas, A. 2005. *Khasiat Meniran sebagai Antihepatitis*. [www.pikiran-rakyat.com](http://www.pikiran-rakyat.com) (Diunduh tanggal 5 Agustus 2020)

Sudarno, S., F. A. Setiorini dan H. Suprpto. 2011. Efektifitas Ekstrak Tanaman Meniran (*Phyllanthus niruri*) Sebagai Antibakteri *Edwardsiella tarda* Secara *In Vitro*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 3(1) : 103-108.

<https://ejournal.unair.ac.id/JIPK/article/view/11631/6637>

Sudrajat, A. B. N., N. Diniyah dan R. R. Fauziah. 2016. Karakterisasi Sifat Fisik dan Fungsional Isolat Protein Koro Bengkuk (*Mucuna pruriens*). *Prosiding Seminar Nasional ATPA, Jember*. 11-118.

<https://repository.unej.ac.id/bitstream/handle/12345678>



[9/79852/A.%20Bagus%20Nur%20S Pros%20APTA%202016 1.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://ejournal.ipb.ac.id/index.php/jtip/article/view/4309/3861)

Sukanto, Aulanni'am dan Sudiyono. 2009. Sifat Fungsional Produk Interaksi Fraksi Globulin 7S Komak (*Dolichos lablab*) dan Gum Xantan. *J. Teknologi dan Industri Pangan*. 20(2) : 117-123.  
<https://journal.ipb.ac.id/index.php/jtip/article/view/4309/3861>

Sulaksana, J. dan D. I. Jayusman. 2004. *Meniran: Budidaya dan pemanfaatan untuk obat*. Jakarta: Penebar Swadaya.  
<http://103.140.206.3/opac/detail-opac?id=2262>

Susanti, R. dan E. Hidayat. 2016. Profil Protein Susu dan Olahannya. *Jurnal MIPA*. 39 (2) : 98-106.  
<https://journal.unnes.ac.id/nju/index.php/JM/article/view/9282/6080>

Sutiah, S., K. S. Firdausi dan W. S. Budi. 2008. Studi Kualitas Minyak Goreng dengan Parameter Kekentalan dan Indeks Bias. *Berkala Fisika*. 11(2) : 53-58.  
[https://ejournal.undip.ac.id/index.php/berkala\\_fisika/article/download/2981/2665](https://ejournal.undip.ac.id/index.php/berkala_fisika/article/download/2981/2665)

Tamime, A. Y. 2009. *Dairy powders and concentrated products*. Blackwell Publishing Ltd : Chicester, UK.  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/978144322729>

Tan, M. C., N. L. Chin, Y. A. Yusof, F. S. Taip and J. Abdullah. 2015. Characterisation of Improved Foam Aeration and Rheological Properties of Ultrasonically Treated Whey Protein Suspension. *International Dairy Journal*. 43 : 4-14.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694614002088>

Thongkaew, C., M. Gibis, J. Hinrichs and J. Weiss. 2014. Polyphenol Interactions with Whey Protein Isolate and Whey Protein Isolate-Pectin Coacervates. *Food Hydrocolloids*. 41 : 103-112.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.02.006>

Triyono, A. 2010. Mempelajari Pengaruh Penambahan Beberapa Asam pada Proses Isolasi Protein terhadap Tepung Protein Isolat Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus* L.) *Seminar Rekayasa Kimia dan Proses*. 10 :1-9.

<http://eprints.undip.ac.id/27996/1/C-10.pdf>

Tsuge, H., Y. Tanaka and N. Hisamatsu. 2000. Fouling of Cheese Whey during Reverse Osmosis and Precipitation of Calcium Phosphate. *Bioseparation Engineering*. 1 : 47-53.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921042300800118>

von Staszewski, M., V. M. P. Ruiz-Henestrosa and A. M. R. Pilosof. 2014. Green Tea Polyphenols- $\beta$ -lactoglobulin Nanocomplexes: Interfacial Behavior, Emulsification and Oxidation Stability of Fish Oil. *Journal Food Hydrocolloids*. 35 : 505-511.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X13002105>

Walsh, G. 2014. *Proteins Biochemistry and Biotechnology Second Edition*. John Wiley & Sons, Ltd. West Sussex, UK.

<http://download.e-bookshelf.de/download/0002/2812/64/L-G-0002281264-0003064020.pdf>

Wang, J., X. Xiao and G. Li. 2008. Study of Vacuum Microwave-assisted extraction of Polyphenolic Compounds and Pigment from Chinese Herbs. *Journal*

of *Chromatography*. 1198-1199 : 45-53.  
[https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021-9673\(08\)00906-0](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021-9673(08)00906-0)

Wang, Z., S. Zhang and B. Vardhanabhuti. 2015. Foaming Properties of Whey Protein Isolate and  $\lambda$ -Carrageenan Mixed Systems. *Journal Of Food Sciences*. 80(8) : 1893-1902. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12940>

Wu, L., M. Hu, Z. Li, Y. Song, C. Yu, H. Zhang, A. Yu, Q. Ma and Z. Wang. 2016. Dynamic Microwave-assisted extraction Combined with Continuous-flow Microextraction for Determination of Pesticides in Vegetables. *Food Chemistry*. 192 : 596-602.  
[https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308-8146\(15\)01065-1](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308-8146(15)01065-1)

Xiong, X., M. T. Ho, B. Bhandari and N. Bansal. 2020. Foaming Properties of Milk Protein Dispersions at Different Protein Content and Casein to Whey Protein Ratios. *International Dairy Journal*. 109 : 104758.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S095869462030128X>

Yusibani, E., N. A. Hazmi dan E. Yuvita. 2017. Pengukuran Viskositas Beberapa Produk Minyak Goreng Kelapa Sawit Setelah Pemanasan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian*. 9(1) : 1-5.  
<http://jurnal.unsyiah.ac.id/TIPI/article/view/6108/6867>

Zembyla, M., B. S. Murray, S. J. Radford and A. Sarkar. 2019. Water-in-oil Pickering Emulsions Stabilized by An Interfacial Complex of Water-Insoluble Polyphenol Crystals and Protein. *Journal of Colloid and Interface Science*. 548 : 88-99.



<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021979719304205>

Zheng, M., Z. B. Jia and J. X. Jiang. 2014. Emulsifying and Foaming Properties of Soy Protein with Covalent Modification by (-)-Epigallocatechin-3-Gallate. *Advance Journal of Food Science and Technology*. 6(2) : 238-240. <http://dx.doi.org/10.19026/ajfst.6.17>

Zhou, L., M. Cai, T. Tong and H. Wang. 2017. Progress in the Correlative Atomic Force Microscopy and Optical Microscopy. *Journal Sensors*. 17 (938) : 1-15. <https://www.mdpi.com/1424-8220/17/4/938/pdf>

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Prosedur Kerja Pengujian Viskositas (Abooughoush, *et al.*, 2008)

1. Diambil sampel sebanyak 100 ml
2. Dilakukan uji viskositas menggunakan Viscometer Brookfield dengan *spindle* No.40 pada suhu 37°C dan 20 rpm selama 20 detik
3. Dicatat hasil uji viskositas.

### Lampiran 2. Prosedur Kerja Pengujian *Foam Overrun* (Zheng, *et al.*, 2014)

1. Diambil sampel 20 ml dan diletakkan pada tabung
2. Diaduk dengan menggunakan *hand mixer* selama 3 menit
3. Ditunggu selama 30 detik
4. Diukur sampel menggunakan gelas ukur 100 ml
5. Dilakukan perhitungan *Foam Overrun* dengan rumus:

$$OV (\%) = \frac{V_t}{V_o} \times 100\%$$

Keterangan:  $V_t$  : volume akhir larutan setelah diaduk (ml)

$V_o$  : volume awal larutan (ml).

### Lampiran 3. Prosedur Kerja Pengujian *Foam Stability* (Zheng, *et al.*, 2014)

Perhitungan *Foam Stability* dilakukan setelah 30 menit setelah uji *Foam Overrun*.

1. Diambil sampel 20 ml dan diletakkan pada tabung
2. Diaduk dengan menggunakan *hand mixer* selama 3 menit

3. Ditunggu selama 30 menit
4. Diukur menggunakan gelas ukur 100 ml
5. Dilakukan perhitungan *Foam Overrun* dengan rumus:

$$FS (\%) = \frac{V_t}{V_o} \times 100\%$$

Keterangan:  $V_t$  : volume akhir larutan setelah diaduk  
(ml)

$V_o$  : volume awal larutan (ml).

#### **Lampiran 4. Prosedur Kerja Pengujian *Optical Microscopy* (Rahayu, dkk., 2015)**

1. Diambil sampel sebanyak 20 ml yang telah dihomogenkan selama 1 menit
2. Ditetesi *foam* yang terbentuk pada *object glass* sebanyak 1 tetes, kemudian ditutup dengan *cover glass*
3. Diamati dengan menggunakan mikroskop optik dengan perbesaran 40x dan 100x
4. Difoto hasil pengamatan dengan menggunakan kamera.



## Lampiran 5. Data dan Analisis Statistika Viskositas

**Tabel 7.** Viskositas penambahan ekstrak meniran pada protein whey

Perlakuan	Ulangan			TOTAL	RATAAN	STDEV
	U1	U2	U3			
<b>P0</b>	10,44	11,28	9,55	31,27	10,42	0,87
<b>P1</b>	4,06	7,07	4,78	15,91	5,30	1,57
<b>P2</b>	10,62	6,45	5,44	22,51	7,50	2,75
<b>P3</b>	1,56	5,86	5,21	12,63	4,21	2,32
<b>TOTAL</b>	26,68	30,66	24,98	82,32	27,44	7,50

a. Faktor Koreksi

$$\begin{aligned}
 FK &= (T y_{ij})^2 / rt \\
 &= \frac{(82,32)^2}{12} = 564,715
 \end{aligned}$$

b. Jumlah Kuadrat

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{Total}} &= \{(y_{1j}^2 + y_{2j}^2 + \dots + y_{rj}^2)\} - FK \\
 &= (10,44^2 + 11,28^2 + \dots + 5,21^2) - 564,715 \\
 &= 99,934 \\
 JK_{\text{Perlakuan}} &= \{(Ty_{1j}^2 + Ty_{2j}^2 + \dots + Ty_{rj}^2)/r\} - FK \\
 &= \{(31,27^2 + 15,91^2 + \dots + 12,63^2/3)\} - 564,715 \\
 &= 67,671 \\
 JK_{\text{Galat}} &= JK_{\text{Total}} - JK_{\text{Perlakuan}} \\
 &= 99,934 - 67,671 \\
 &= 32,263
 \end{aligned}$$

c. Kuadrat Tengah

$$\begin{aligned}
 KT_{\text{Perlakuan}} &= JK_{\text{Perlakuan}} / db_{\text{Perlakuan}} \\
 &= 67,671 / 3
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= 22,557 \\
 \text{KT}_{\text{Galat}} &= \text{JK}_{\text{Galat}} / \text{db}_{\text{Galat}} \\
 &= 32,263 / 8 \\
 &= 4,033 \\
 \text{F Hitung} &= \text{KT}_{\text{Perlakuan}} / \text{KT}_{\text{Galat}} \\
 &= 22,557 / 4,033 \\
 &= 5,593
 \end{aligned}$$

**Tabel 8.** Analisis Ragam Viskositas

SK	Db	JK	KT	Fhit	F tabel 5%	F tabel 1%	Notasi
<b>Perlakuan</b>	3	67,671	22,557	5,593	4,066	7,591	*
<b>Galat</b>	8	32,263	4,033				
<b>Total</b>	11	99,934					

Keterangan : Berdasarkan hasil perhitungan  $F_{hit} > F_{tabel} 5\%$ , maka perlakuan menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).

**Tabel 9.** DMRT

Perlakuan	Rataan	Notasi
<b>P3</b>	4,21	a
<b>P1</b>	5,303	a
<b>P2</b>	7,503	ab
<b>P0</b>	10,423	b

Keterangan : Perlakuan dengan penambahan ekstrak meniran 60 ug/ml memberikan viskositas yang optimal pada whey protein.

## Lampiran 6. Data dan Analisis Statistika *Foam Overrun*

**Tabel 10.** *Foam Overrun* penambahan ekstrak meniran pada protein whey

PERLAKUAN	ULANGAN					
	U1	U2	U3	TOTAL	RATAAN	STDEV
<b>P0</b>	327,5	325	325	977,5	325,83	1,44
<b>P1</b>	325	325	325	975	325,00	0,00
<b>P2</b>	325	325	325	975	325,00	0,00
<b>P3</b>	325	325	302,5	952,5	317,50	12,99
<b>TOTAL</b>	1302,5	1300	1277,5	3880	1293,333	14,43

a. Faktor Koreksi

$$\begin{aligned}
 FK &= (T y_{ij})^2 / rt \\
 &= \frac{(3880)^2}{12} = 12545333
 \end{aligned}$$

b. Jumlah Kuadrat

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{Total}} &= \{(y_{1j}^2 + y_{2j}^2 + \dots + y_{rj}^2)\} - FK \\
 &= (327,5^2 + 325^2 + \dots + 302,5^2) - 12545333 \\
 &= 479,167
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{Perlakuan}} &= \{(Ty_{1j}^2 + Ty_{2j}^2 + \dots + Ty_{rj}^2)/r\} - FK \\
 &= \{(977,5^2 + 975^2 + \dots + 952,5^2/3)\} - 12545333 \\
 &= 137,5
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{Galat}} &= JK_{\text{Total}} - JK_{\text{Perlakuan}} \\
 &= 479,167 - 137,5 \\
 &= 341,667
 \end{aligned}$$



c. Kuadrat Tengah

$$KT_{\text{Perlakuan}} = JK_{\text{Perlakuan}} / db_{\text{Perlakuan}}$$

$$= 137,5 / 3$$

$$= 45,833$$

$$KT_{\text{Galat}} = JK_{\text{Galat}} / db_{\text{Galat}}$$

$$= 341,667 / 8$$

$$= 42,708$$

$$F_{\text{Hitung}} = KT_{\text{Perlakuan}} / KT_{\text{Galat}}$$

$$= 45,833 / 42,708$$

$$= 1,073$$

**Tabel 11.** Analisis Ragam *Foam Overrun*

SK	Db	JK	KT	Fhit	F tabel 5%	F tabel 1%	Notasi
<b>Perlakuan</b>	3	137,5	45,833	1,073	4,066	7,591	ns
<b>Galat</b>	8	341,667	42,708				
<b>Total</b>	11	479,167					

Keterangan : Berdasarkan hasil perhitungan  $F_{\text{hit}} < F_{\text{tabel}}$ , maka perlakuan menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata ( $P > 0,05$ ).

## Lampiran 7. Data dan Analisis Statistika *Foam Stability*

**Tabel 12.** *Foam stability* penambahan ekstrak meniran pada protein whey

Perlakuan	Ulangan			TOTAL	RATAAN	STDEV
	U1	U2	U3			
<b>P0</b>	225	250	225	700	233,33	14,43
<b>P1</b>	225	227,5	225	677,5	225,83	1,44
<b>P2</b>	225	225	225	675	225,00	0,00
<b>P3</b>	227,5	225	250	702,5	234,17	13,77
<b>TOTAL</b>	902,5	927,5	925	2755	918,333	29,65

a. Faktor Koreksi

$$\begin{aligned}
 \text{FK} &= (T y_{ij})^2 / rt \\
 &= \frac{(2755)^2}{12} = 532502,1
 \end{aligned}$$

b. Jumlah Kuadrat

$$\begin{aligned}
 \text{JK}_{\text{Total}} &= \{(y_{1j}^2 + y_{2j}^2 + \dots + y_{rj}^2)\} - \text{FK} \\
 &= (225^2 + 250^2 + \dots + 250^2) - 532502,1 \\
 &= 1010,417
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK}_{\text{Perlakuan}} &= \{(Ty_{1j}^2 + Ty_{2j}^2 + \dots + Ty_{rj}^2)/r\} - \text{FK} \\
 &= \{(700^2 + 677,5^2 + \dots + 702,5^2/3)\} - 532502,1 \\
 &= 210,417
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK}_{\text{Galat}} &= \text{JK}_{\text{Total}} - \text{JK}_{\text{Perlakuan}} \\
 &= 1010,417 - 210,417 \\
 &= 800
 \end{aligned}$$

c. Kuadrat Tengah

$$KT_{\text{Perlakuan}} = JK_{\text{Perlakuan}} / db_{\text{Perlakuan}}$$

$$= 210,417 / 3$$

$$= 70,139$$

$$KT_{\text{Galat}} = JK_{\text{Galat}} / db_{\text{Galat}}$$

$$= 800 / 8$$

$$= 100$$

$$F_{\text{Hitung}} = KT_{\text{Perlakuan}} / KT_{\text{Galat}}$$

$$= 70,417 / 100$$

$$= 0,701$$

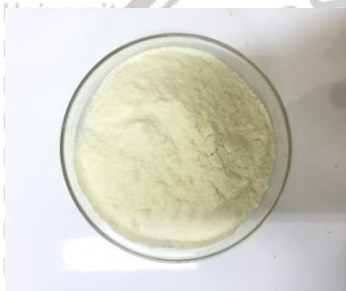
**Tabel 13.** Analisis Ragam *Foam Stability*

SK	Db	JK	KT	Fhit	F tabel 5%	F tabel 1%	Notasi
<b>Perlakuan</b>	3	210,417	70,139	0,701	4,066	7,591	Ns
<b>Galat</b>	8	800	100				
<b>Total</b>	11	1010,417					

Keterangan : Berdasarkan hasil perhitungan  $F_{\text{hit}} < F_{\text{tabel}}$ , maka perlakuan menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata ( $P > 0,05$ ).



## Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian



Whey Protein Isolate 90



Serbuk Meniran



Tahap Maserasi



Meniran yang telah dievaporasi



Larutan Meniran



Hasil Ekstraksi MAE



Larutan  $\text{NaNO}_3$



Ditimbang meniran 3 g



Sampel yang akan dianalisa



Sampel dengan analisa *Foam*



*Microwave* untuk ekstraksi



Modifikasi *microwave* dengan penambahan kondensor





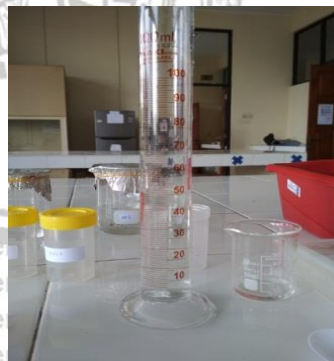
Mini Handmixer



Timbangan Digital



Ayakan 80 mesh



Peralatan Laboratorium